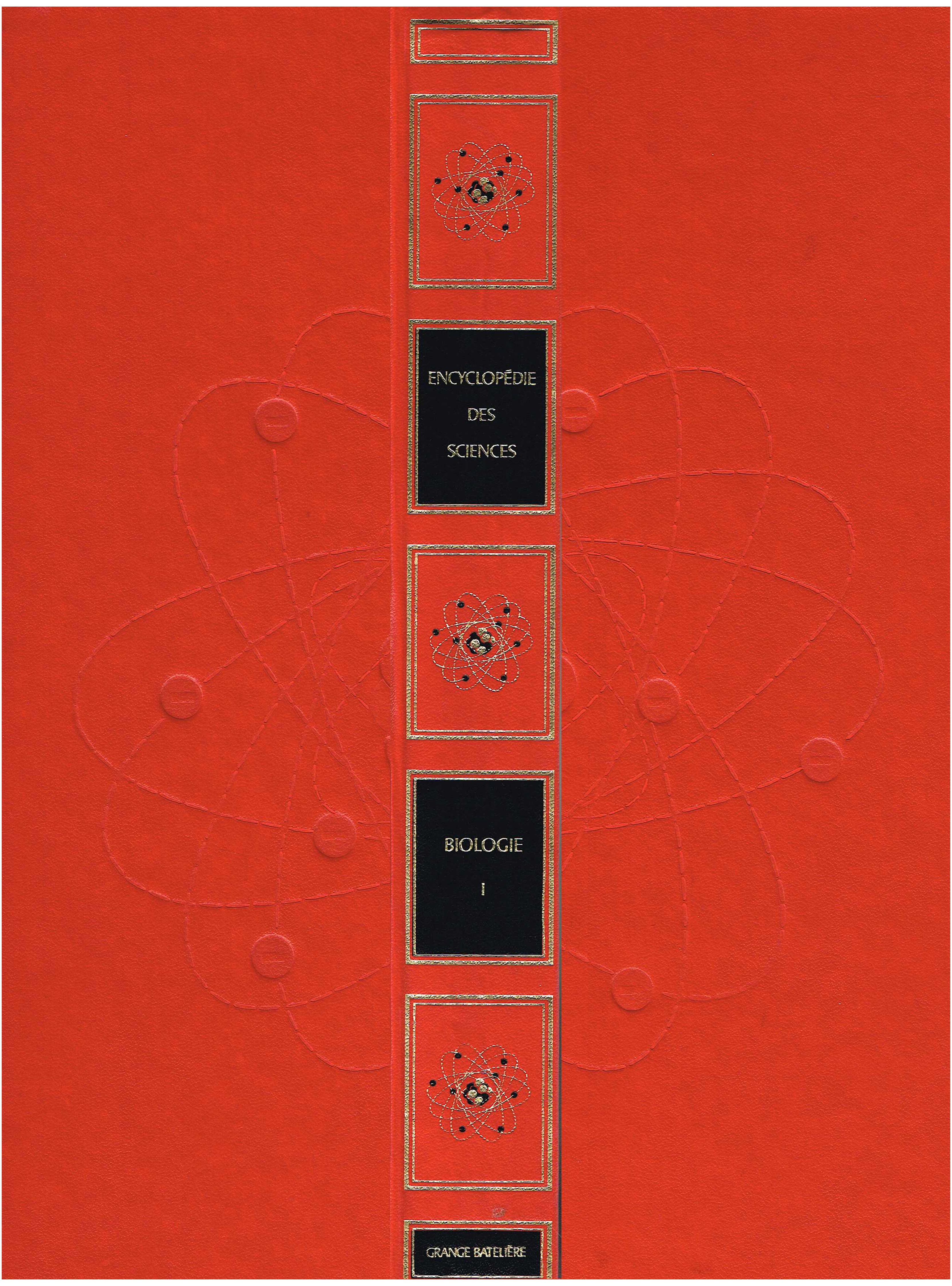
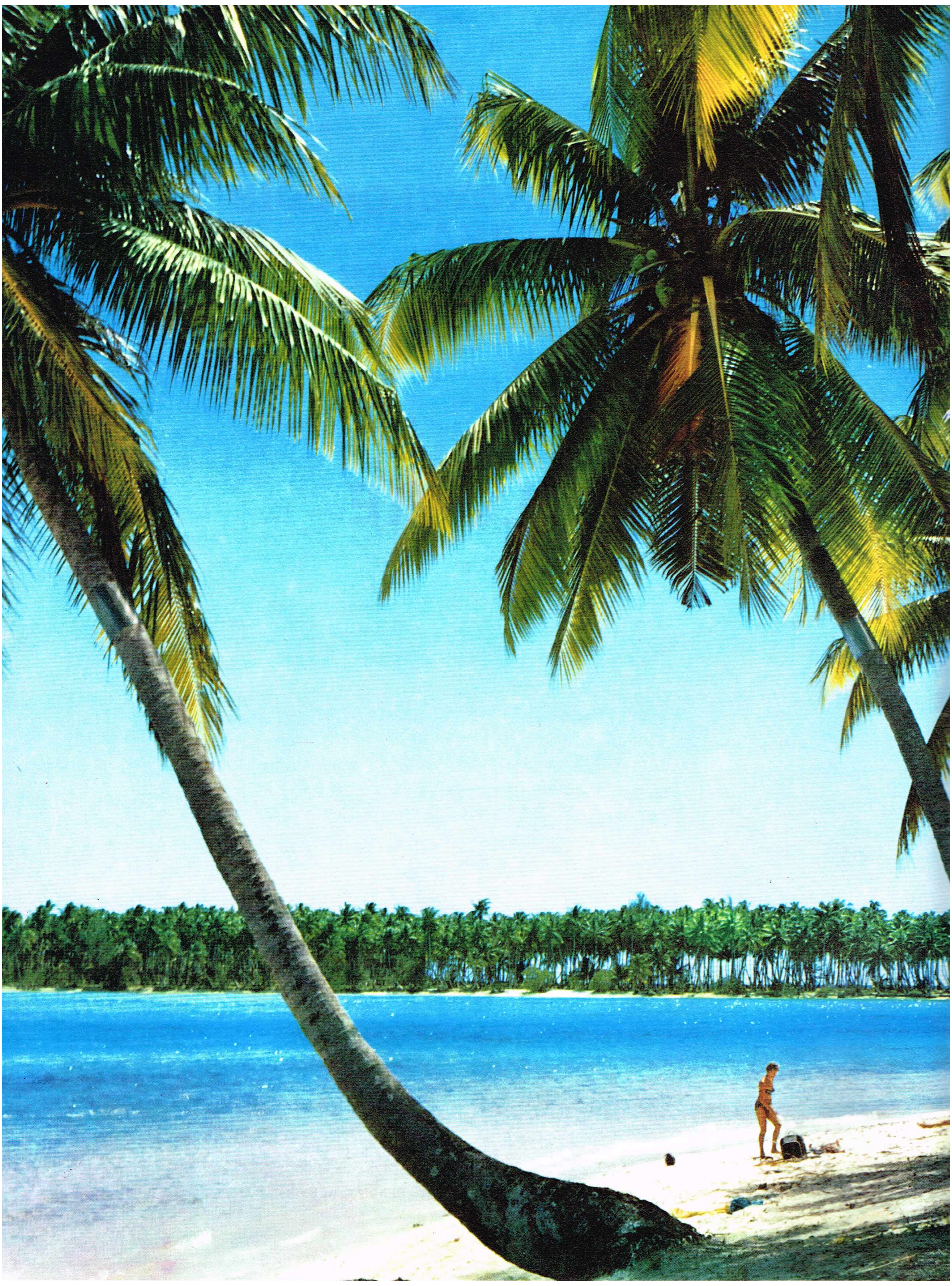

ENCYCLOPÉDIE
DES
SCIENCES
BIOLOGIE
I
GRANGE BATELIÈRE

GRANDE ENCYCLOPÉDIE ALPHA DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES

BIOLOGIE

I

GRANGE BATELIÈRE, PARIS - ÉDITIONS KISTER, GENÈVE - ÉRASME, BRUXELLES-ANVERS



Publiée sous le haut patronage de :
Messieurs les professeurs :
Jean DORST, membre de l'Institut,
Charles FEHRENBACH, membre de l'Institut,
Roger HEIM, membre de l'Institut,
Monsieur l'amiral André JUBELIN,
Messieurs les professeurs :
Pierre LÉPINE, membre de l'Institut,
Louis LEPRINCE-RINGUET, de l'Académie française,
Jean-François LEROY, professeur au Muséum national d'histoire naturelle,
Henri NORMANT, membre de l'Institut,
Monsieur Jacques PICCARD, docteur ès sciences h.c.

Réalisation	IDÉES ET ÉDITIONS 16, avenue de Friedland, 75008 Paris
Comité de direction	Cristobal de ACEVEDO, Simone DEVAUX, Uberto TOSCO.
Rédaction	Patrick PHLIPONEAU, Françoise MENU, Marie-Noëlle RENARD, Vanina DORÉ.
Recherche de l'illustration	Mathilde RIEUSSEC.
Mise en pages	Tito TOPIN et Serge BROCHE.
Illustrations techniques	Richard COLIN.
Coordinateur des dessins	Mario LOGLI.
Fabrication	Sylvie MARCHAND, Martine TOTIN.
Directeur de la publication	J.-P. BRÉVOST.

S. Prato

Ont collaboré à ce volume :

M. GUÉDÈS, pour l'Introduction.

J. BOUCHARD, pour :
1. Nature cellulaire des êtres vivants.
2. Les principaux constituants chimiques de la matière vivante et leurs fonctions.
3. Structure et fonctionnement de la cellule.
S. BLAISE ayant participé à la rédaction des questions relatives aux végétaux dans les deux premiers chapitres et à celle du texte consacré aux chloroplastes dans le troisième chapitre.

Y. BRYGOO, pour : Cycles de reproduction et sexualité.

Y. BRYGOO, G. LEBLON et J.-M. SIMONET pour : Génétique et hérédité.

M. GUÉDÈS, pour : Embryologie végétale.

Les schémas portant la référence Richard Colin ont été réalisés d'après des croquis fournis par les auteurs.



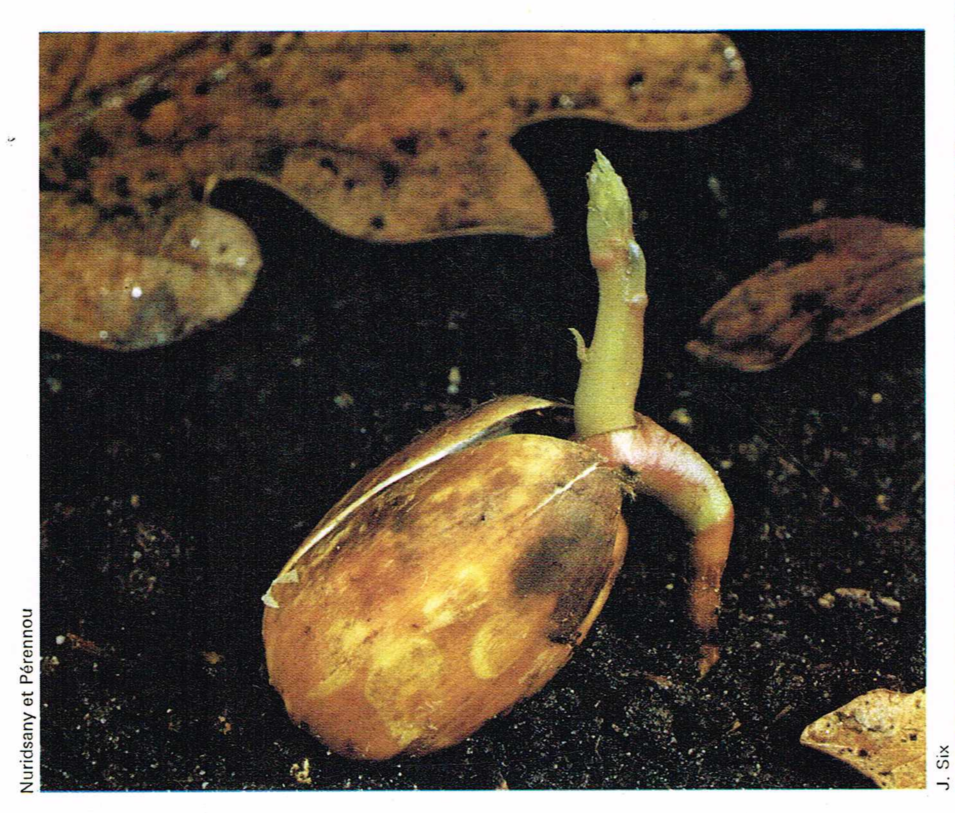
◀ Le développement d'un être vivant est un phénomène merveilleusement programmé (dans lequel le hasard semble n'avoir aucune part); sur cette illustration, un fœtus humain au début de la neuvième semaine de vie intra-utérine (préparation du docteur C. Cavezzale).

LA BIOLOGIE

On a soutenu récemment qu'une science de la vie, celle que G.R. Treviranus (1776-1837) et J.-B. de Lamarck (1744-1829) ont appelée la Biologie, n'avait pu voir le jour qu'au siècle dernier. En fait, la notion d'être vivant, animal ou végétal, distinct du monde inerte remonte à l'Antiquité et n'a cessé d'être clairement conçue depuis les philosophes présocratiques et Aristote (384-322 av. J.-C.) jusqu'à C. Linné (1707-1778) ou C. Bonnet (1720-1793). Outre la volonté de ne pas séparer fondamentalement ces êtres vivants du reste de l'univers, ce qui peut et doit toujours être une des idées directrices de la Biologie, on percevait bien ce qu'ils avaient de commun entre eux et qui les distinguait de la matière inerte.

Les êtres vivants ont une existence transitoire : ils naissent, croissent et meurent. Le plus souvent, leur naissance se fait à partir d'un germe très simple d'apparence qui provient d'un autre être vivant semblable, et ils sont eux-mêmes aptes à produire de tels germes à partir d'un certain stade de leur développement. Pourtant, jusqu'au siècle dernier, la question de savoir si les éléments du monde inerte sont susceptibles actuellement de s'organiser n'était pas tranchée : ce n'est qu'avec L. Pasteur (1822-1895), il y a à peine plus d'un siècle, que cette notion fut définitivement bannie. A toutes les époques, il s'était d'ailleurs trouvé des savants pour la nier, et, aux XVIIe et XVIIIe siècles, pour chercher des preuves expérimentales de sa négation.

Pour assurer la croissance quantitative et le développement qualitatif qui les amènent de l'état microscopique de germe à des dimensions qui, pour un séquoia ou un eucalyptus, peuvent dépasser celles des cathédrales, les êtres vivants doivent assimiler des quantités souvent énormes de substances. Dans le cas des végétaux, il est manifeste que ces substances sont empruntées au monde inerte ou sont d'abord mêlées à lui ; ainsi, on a cru jusqu'au XVIIIe siècle qu'ils se nourrissaient à partir de la terre avant de s'apercevoir que la plupart doivent beaucoup à l'air. Pour les animaux, qui consomment des végétaux ou d'autres animaux, le vivant se crée à partir de matière préalablement vivante.


Nuridsany et Pérennou


J. Six

▲ *Pour assurer leur croissance quantitative et leur développement qualitatif, les êtres vivants (animaux et végétaux) doivent assimiler des quantités souvent énormes de substances : ici, à gauche, un gland de chêne commence à germer; à droite, un chêne adulte.*

Le développement d'un être vivant est un phénomène merveilleusement programmé dans lequel le hasard semble n'avoir aucune part. Dire que ce développement est programmé, c'est utiliser un terme « scientifique » qui est accepté par tous. Dans le passé, on a souvent dit que l'être qui subit ce développement montre par là qu'il a une « âme ». Il faut essayer de déceler ce qu'on tentait de désigner par ce terme.

L'âme et la forme

Pour beaucoup de penseurs, le monde en général manifeste une espèce d'organisation : il n'est donc nullement étonnant que l'univers ait été considéré comme un être vivant, aux Ve et IVe siècles av. J.-C., que ce soit par Parménide, Démocrite ou Platon. Cette idée d'un « organisme de la nature » se retrouvera notamment au XIXe siècle, en Allemagne, chez les « philosophes de la nature » ainsi que chez des savants qui cherchaient à extraire ce qu'il y avait d'acceptable dans les spéculations de ces philosophes. Dans ces conceptions, l'organisation, c'est l'âme du monde. Néanmoins les êtres vivants, au sens strict, présentent des caractères si marqués par rapport à la matière inorganique qu'il fallait leur attribuer une âme particulière, éventuellement rattachée à celle du monde. Plusieurs solutions sont alors possibles, dont certaines au moins relèvent de la science.

Pour Démocrite, le monde est formé d'atomes tous constitués de la même matière, homogènes, indestructibles, impénétrables, en nombre infini et d'une infinie variété de formes et de tailles. En obéissant aux lois de la nature, c'est-à-dire sans intervention du hasard, ces atomes forment divers agrégats, éléments visibles de l'univers, qui renferme essentiellement de l'eau et de la terre. Certains atomes sont particuliers : rassemblés en assez grand nombre et en masses relativement pures, ils forment le feu ; mais s'ils s'intègrent à une structure donnée en se mêlant étroitement, à des endroits précis, aux atomes qui la constituent, ils vivifient cette structure, qui devient un corps vivant.

A côté des atomes de feu disséminés partout à des endroits précis, et qui sont l'âme végétative, d'autres résident dans la poitrine et constituent l'esprit, la conscience de l'homme. On comprend l'importance du feu chez Démocrite : la vie est d'abord évidente chez les hommes et chez les animaux à sang chaud, et la disparition de celle-ci s'accompagne de leur refroidissement. Or, le feu est ce qui maintient la chaleur dans le monde inerte ; c'est donc lui qui maintient la vie. De plus, la respiration est indispensable à la vie comme l'air est indispensable au feu. Quant à l'esprit, s'il est concentré dans la poitrine, c'est assurément que l'homme heureux ou ému sent en cet endroit des manifestations concomitantes dans le rythme de son cœur et de sa respiration. Il était naturel qu'on songeât d'abord à placer là le siège des sentiments, comme le fait toujours le langage courant ; même le médecin grec Galien (130-200) n'y renoncera pas encore tout à fait.

Quoi qu'il en soit, on voit que c'est avec les éléments du monde ambiant que Démocrite construit les êtres vivants. Cependant, pour rendre compte des caractères propres à ces derniers, il a recours à la présence d'éléments ignés non moins naturels, mais convenablement localisés. D'autres avant lui avaient attribué la même fonction à l'air ou à l'eau. Au cours des siècles, apparaîtront beaucoup d'autres interprétations faisant dépendre la vie d'une matière vitale particulière ; le plus souvent, celle-ci ne sera pas formée d'éléments différents de ceux du milieu ambiant, et ne constituera pas tout à fait l'être vivant, mais le vivifiera seulement. Ce sera souvent le sang ou encore, selon G.-L. de Buffon (1707-1788), ce seront les molécules organiques, distinctes des molécules inertes.

Le caractère illusoire ou au moins insuffisant de cette explication ne pouvait manquer d'apparaître. En effet, dans la mesure où les atomes de feu doivent être convenablement « placés », le véritable principe vivificateur, c'est en fait le « plan » qui définit l'intrication des atomes banals de feu parmi les atomes banals de terre et d'eau dont est formé le corps. Mais une question surgit immédiatement ; ce plan a-t-il un support matériel qui puisse en assurer à la génération suivante la réalisation identique ?

Pour Platon (428-347 av. J.-C.), ce support matériel n'existe pas. L'être vivant est formé d'éléments inertes en eux-mêmes, mais vivifiés par la présence d'une âme immatérielle mais présente, et même sous trois formes. Elle est liée aux éléments du corps, à condition toutefois que ceux-ci soient conformés de façon à la recevoir. Voilà encore une théorie qui pose plus de problèmes qu'elle n'en résout. En effet, remplacer les atomes d'âme par une âme immatérielle ne simplifie nullement la question, d'autant moins que, dans une telle hypothèse, le corps devrait être organisé au préalable pour abriter cette âme. Nous retombons dans le même cercle vicieux que précédemment : pour recevoir son âme, l'être vivant doit déjà posséder une sorte d'âme qui est à la source de son organisation.

Pourtant, l'idée de Platon, plus ou moins modifiée, sera souvent reprise ultérieurement, soit qu'on attribue une pareille âme aux hommes comme aux animaux, et même aux plantes, soit qu'on la refuse, comme R. Descartes (1596-1650), aux animaux et aux plantes pour ne la laisser qu'aux hommes.

*Mais déjà Aristote (384-322 av. J.-C.), d'abord élève de Platon, perçoit l'inutile complication de la thèse de son maître ainsi que l'insuffisance de celle de Démocrite, et reconnaît l'importance de l'organisation sans avoir recours à l'artifice d'une âme surajoutée. Pour Aristote, c'est le mode d'organisation même du corps (sa forme) qui est son âme, qui détermine sa vie. L'âme est encore immatérielle, et Aristote en distingue plusieurs sortes, car un homme est plus riche de ce point de vue qu'un animal et un animal qu'une plante, mais, à vrai dire, cette âme n'a pas d'existence autonome, elle n'est pas surajoutée au corps. Contrairement à ce qu'on pourrait croire, une telle thèse est remarquablement proche de certaines conceptions modernes ; il suffit pour s'en rendre compte de remplacer l' « âme » par l'*information.

Aristote n'envisage pas que des substances particulières entrent dans la constitution des êtres vivants, ni que des processus surnaturels leur permettent de croître et de se reproduire. D'après lui, chez les animaux, il se produit un échange continuel de substances avec le milieu externe. D'autres le soulignaient déjà avant lui ; c'est ce que, plus tard, G. Cuvier (1769-1832) désignera par l'expression « tourbillon vital ». Cet échange permanent est évident puisque, même au repos, l'adulte ingère constamment tandis que son poids n'augmente pas ou peu. Pour Aristote, un organe est susceptible de communiquer, par le moyen de la chaleur, de mystérieux mouvements propres au sang qui le pénètre et par là de transformer ce sang en constituants qu'il pourra s'assimiler. De la même façon, c'est un sang tout spécialement préparé, manifestant les « mouvements propres » de tous les organes du corps, qui constitue la semence du mâle ; celle-ci communique ses mouvements au sang menstruel et, grâce à cette dernière substance, ne donnera plus seulement un tissu ou un organe, mais un individu complet : c'est l'acte de la reproduction. La chaleur a d'ailleurs une grande importance dans l'influence de la semence, de même qu'un élément supplémentaire, le pneuma. *Mais si Aristote affirme l'aspect vivifiant du chaud, comme Démocrite le faisait du feu, il n'y voit plus l'âme, mais seulement son instrument. Au cours du développement, le sang de la femelle réalise matériellement et progressivement les organes de l'embryon, en obéissant à une cause finale : la forme de l'embryon à obtenir. Il effectue ce qu'il possédait en puissance (puisqu'il* peut *le faire !), mais le produit ne préexistait pas en lui matériellement. Aristote est donc ce qu'on appellera un* épigéniste.

Il est intéressant de démontrer le mécanisme du raisonnement antique. Que le sang soit fondamental à la vie n'est pas douteux, puisque sa perte entraîne la mort. Aristote savait, d'ailleurs, que l'intestin est richement vascularisé et en déduisait que les aliments convenablement préparés (par la chaleur !) sont absorbés pour être transformés en sang dans le cœur, le foie et la rate (organes gorgés de sang) ; c'est donc sur lui qui repose l'assimilation. Si, lors de la menstruation, on voit ce sang fuser naturellement par l'orifice qui donne issue à la vie, c'est qu'il intervient sûrement dans la génération, qui, pour Aristote, n'est qu'une assimilation particulière. Cependant, dans la mesure où la femme, être inférieur et faible, ne peut avoir le rôle prépondérant dans une pareille merveille, la semence que l'homme lui apporte, et qui est l'élément essentiel de la génération, doit appartenir aussi au sang (la femme ne faisant qu'en confirmer l'importance génératrice).

Il fallait que la confiance d'Aristote dans la raison fût bien forte pour soutenir que le sperme est du sang. Démocrite, lui, parlait de semences formées de particules empruntées à tout le corps, du mâle comme de la femelle. Pourtant, ces erreurs ne doivent pas nous inciter à considérer toute l'œuvre de ces penseurs comme « préscientifique ». A côté de ces spéculations, les vues générales d'Aristote sont de valeur durable et ne sont pas essentiellement différentes de celles de Claude Bernard (1813-1878) par exemple. Comme Aristote, celui-ci considérait que les êtres vivants sont constitués de matière ordinaire, sans âme matérielle ou immatérielle surajoutée, mais obéissent pourtant à une « consigne », un code, une information, en somme une cause finale, laquelle se manifeste lors de leur développement et de leur fonctionnement. D'ailleurs, en ce qui concerne la génération, Aristote avait le remarquable mérite de chercher un support matériel au passage de l'information d'une génération à l'autre par recours à des mouvements transmis, alors que Claude Bernard, pour sa part, se contentait de dire que la vie répète sa consigne.

Vitalisme et mécanisme

A partir de l'époque de Platon et d'Aristote, vont se développer dans la Biologie deux grands courants.

Pour le vitalisme *proprement dit, les êtres vivants ont une âme immatérielle, surajoutée, laquelle se manifeste directement par des phénomènes que nous constatons mais ne pouvons expli-*

▶ *Pour* Démocrite, *le feu, source de chaleur dans le monde inerte, était aussi source de vie.*



Sergio Larrain - Magnum

quer par des causes physico-chimiques. Au début du siècle dernier, le botaniste A.-P. de Candolle (1778-1842), par exemple, admettait que les mouvements de sommeil des feuilles sont dans ce cas, et cent ans plus tard, l'embryologiste H. Driesch (1867-1941) considérait encore que l'« entéléchie » (principe métaphysique qui détermine l'existence d'un être donné) dirige le développement. Nous avons là un courant platonicien, malgré le terme aristotélicien utilisé par Driesch, qui représente d'ailleurs un courant plutôt animiste que vitaliste. Une variante intéressante de ce vitalisme est la tentative d'unification d'É. Geoffroy Saint-Hilaire (1772-1844), qui n'admet pas d'âme, mais reporte sur la matière inerte des propriétés constatées chez les êtres vivants : il s'agit d'un monisme *vitaliste, comparable à celui de G. Cabanis (1750-1808).*

Pour les tenants du mécanisme, *qui sont véritablement aristotéliciens, les êtres vivants sont des machines et, par conséquent, révèlent une cause finale ; mais comme dans une machine conçue par l'homme, tout se fait en eux par un enchaînement de causes purement physico-chimiques. Telle est, par exemple, la position de Lamarck, qui explique ainsi non seulement le fonctionnement et le développement des êtres vivants, mais aussi l'apparition des groupes taxonomiques. C'est également le cas de Claude Bernard, qui ne s'occupera pas d'évolution. Certains mécanistes recherchent une substance vivante vivificatrice formée de matière usuelle. A la fin du* XVIe *siècle, on verra même Brouault tenter de l'extraire des plantes par distillation !*

Chez les vitalistes, on parlera volontiers de force vitale, *et celle-ci sera distincte des forces physico-chimiques. Mais cette expression n'est pas réservée au vitalisme propre du premier courant, car Claude Bernard l'emploie aussi, en expliquant que « La force vitale dirige des phénomènes qu'elle ne produit pas ; les agents physiques produisent des phénomènes qu'ils ne dirigent pas. » Cependant, chez Claude Bernard, la « force vitale » n'est qu'un terme descriptif dénotant le « programme » d'application des causes physico-chimiques. Il faudra donc être prudent avant de qualifier de vitaliste proprement dit un auteur parlant de force vitale. En ce qui concerne les êtres actuels, les représentants du courant aristotélicien ne se distinguent pas des mécanistes, qui, de leur côté, ne nient point l'existence d'une information dans l'être vivant. Ils se refusent tout au plus à utiliser les mêmes mots pour la décrire.*

L'ÉVOLUTION

Il était naturel que fût posé très tôt dans l'histoire de la Biologie le problème de l'origine des êtres vivants, comme celui du monde en général. Les théories furent nombreuses, s'attachant évidemment surtout d'abord aux origines de l'homme.

Dans les années 300 apr. J.-C., Censorin soutenait ceux pour qui le monde vivant a toujours existé et raillait les hypothèses d'après lesquelles « Il fut un temps où les hommes n'existaient pas, et c'est la nature qui leur a d'abord donné l'être et la vie. » Il citait pourtant entre autres théories celle d'Anaximandre, pour qui « L'eau et la terre réchauffées [toujours la chaleur!] auraient produit des Poissons ou des animaux tout à fait semblables. En eux se seraient peu à peu formés des êtres humains qui y seraient restés enfermés, comme des fœtus [...], et qui, enfin, forçant cette prison, en seraient sortis, déjà capables de s'alimenter eux-mêmes. » Pour d'autres, en particulier pour Démocrite, les premiers hommes étaient formés à partir du limon et de l'eau, sans parler d'opinions bien plus étranges.

Mais Aristote, pour qui le monde, vivant comme inerte, existait de toute éternité, allait avancer une remarque de grande conséquence. Les êtres vivants, disait-il, forment une série ou peuvent être répartis en plusieurs séries suivant qu'on se fonde sur un ensemble d'organes ou un autre parce que tous s'approchent plus ou moins de la divinité (leur « cause finale »), l'homme étant celui qui s'en approche le plus. Ils sont donc, en déduira-t-on, susceptibles d'êtres disposés en une chaîne ou mieux en une échelle des êtres, ou de la nature (scala naturae). *Cette interprétation est en harmonie avec la conception platonicienne que Lovejoy a appelée le* principe de plénitude : *la divinité, étant toute-puissante et infiniment bonne, ne peut que créer toutes les possibilités, et, par conséquent, dans l'échelle de la nature, il existe tous les degrés de perfection... Les notions d'échelle de la nature et de principe de plénitude ont eu, au moins jusqu'au XIXe siècle, un rôle immense dans la pensée biologique et ont été vite mêlées aux doctrines chrétiennes. Elles se sont manifestées, par exemple, au début du siècle dernier chez certains embryologistes. Geoffroy Saint-Hilaire puis E. Serres (1787-1868) ont souligné que les animaux commencent leur développement de la même façon, mais le poursuivent plus ou moins loin sur une même voie. Ils ont tous la même tendance fondamentale qui, réalisée au degré le plus élevé atteint par la nature, conduit à la formation de l'homme. L'évolutionnisme s'emparera de cette conception avec E. Haeckel (1834-1919) qui en fera sa loi biogénétique fondamentale ; mais, à l'origine, elle était étrangère à la notion d'une histoire du monde vivant.*

Puisque les êtres peuvent être disposés en série, on se demanda si, au cours des temps, les termes de celle-ci n'étaient pas apparus successivement dans leur ordre de perfection croissante. On chercha, selon l'expression de Lovejoy, à « temporaliser » l'échelle des êtres. On doit citer notamment parmi les auteurs de ces tentatives G. de Leibniz (1646-1716), J.-B. Robinet (1735-1820) et Ch. Bonnet. Le premier admit un moment un véritable évolutionnisme, c'est-à-dire un lien génétique entre les groupes d'animaux : il envisageait des êtres aquatiques dont les descendants seraient devenus des Amphibiens puis des animaux terrestres. Chez Robinet, par contre, des germes créés à l'origine allaient réaliser chacun en leur temps leur état définitif : les groupes n'étaient donc pas fils les uns des autres. Chez Bonnet aussi, des germes créés à l'origine des choses pouvaient prendre des aspects successifs en rapport avec les conditions successives du globe, conséquences de révolutions. Il apparaît clairement qu'il n'y a pas, là non plus, de véritable évolutionnisme, mais un extrême polyphylétisme, puisqu'il y a autant de lignées que d'espèces actuelles. Notons que Bonnet rapprochait les modifications survenues dans chaque lignée des « révolutions » qu'on observe lors du développement embryonnaire du poulet, pourtant préformé dans son œuf, disait-il.

Avec **Lamarck**, *un évolutionnisme proprement dit devait se réaliser sur la toile de fond de la conception de l'« échelle » de la nature. Né en 1744, Lamarck ne devint zoologiste et évolutionniste qu'à 50 ans. Jusqu'à cet âge, il fut botaniste et, dans son premier ouvrage, en 1778, il était si préoccupé par l'échelle des êtres qu'il cherchait à en établir un tableau partiel en rassemblant des genres de plantes. Puis, rejoignant sur ce point Aristote, il s'aperçut de la difficulté de placer ainsi les êtres en une seule série; il lui fallut donc ramifier celle-ci pour pouvoir trouver dans chaque rameau une progression régulière. Mais dès lors, il n'y a plus un seul terme (l'homme), mais un terme par rameau. En outre, bien des caractères et les êtres qu'ils définissent ne peuvent être rangés dans ces rameaux. Lamarck va rendre compte de ce fait en inventant l'évolutionnisme : si l'« échelle de la nature » est ramifiée et s'il existe des êtres dont elle ne peut rendre compte, c'est que la tendance fondamentale de la nature à produire des êtres en progression graduée a été dérangée; mais comment cela est-il possible si ces derniers sont chacun le produit d'une opération particulière de la divinité toute-puissante? Lamarck répond qu'ils ne le sont pas. Pour lui, leur*



F. Arboria Mella

◀ Pour Aristote, les êtres vivants peuvent être répartis en séries ; ils s'approchent aussi plus ou moins de la divinité, l'homme étant celui qui s'en approche le plus.

▼ J.-B. de Monet, chevalier de Lamarck, né en 1744, conçut l'évolutionnisme sur la toile de fond de la conception de l'« échelle » de la nature.

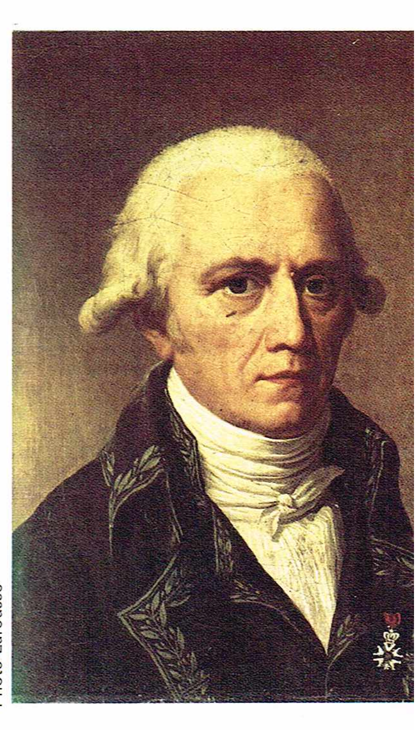


Photo Larousse

création est un processus naturel et nécessaire, comme d'ailleurs l'origine de la vie à partir de l'inerte. La genèse des espèces s'effectue par des modifications insensibles de la descendance de chaque être dans le sens voulu par la progression naturelle. Les tendances de l'inerte à produire l'animé et de l'animé à se compliquer de génération en génération ont été placées une fois pour toutes, par la divinité, dans les propriétés de la matière originelle; dès cet instant, tous ces phénomènes n'impliquent plus que des enchaînements purement matériels. Nous ne sommes pas loin, semble-t-il, de Démocrite!

Mais le milieu contrecarre la tendance à la progression naturelle, d'où une divergence buissonnante de la forme des êtres, à travers laquelle les lignes directrices ne se reconnaissent qu'au niveau de quelques caractères sur lesquels le milieu n'a pas prise. Pour que le milieu ait un tel rôle, il faut évidemment que les variations qu'il induit, directement chez les plantes, indirectement chez les animaux qui éprouvent des besoins et modifient eux-mêmes leur corps en conséquence, deviennent héréditaires. L'acquisition et l'hérédité de ces caractères adaptatifs sont les aspects classiques du lamarckisme, mais on voit qu'ils n'en sont que des aspects assez secondaires.

Un évolutionnisme d'inspiration comparable, dont les origines, probablement distinctes du lamarckisme, restent à étudier, se répandit dans le public à l'époque romantique, et tard dans sa vie, Geoffroy Saint-Hilaire développa des vues rappelant un peu celles de Lamarck, mais d'une manière qui, encore une fois, n'était pas faite pour retenir l'attention de ses pairs. En Allemagne, le courant de la Naturphilosophie *n'était pas évolutionniste à proprement parler, et J. W. von Goethe (1749-1832) ne l'était pas du tout. J. G. Herder (1744-1803) se contenta de temporaliser la chaîne des êtres. Cependant, vers 1850, le botaniste A. Braun (1805-1877) conçut un évolutionnisme dirigé dans lesquel il y avait un lien génétique entre les groupes successifs, qui ne devait pratiquement rien au milieu. Braun comparait aussi le développement de l'ensemble des êtres vivants au développement de l'individu, végétal en particulier. D'autres auteurs allemands, autrichiens et suisses suivirent cette voie.*

En Angleterre, un ouvrage de ***R. Chambers*** *(1802-1871) parut anonymement en 1844 sous le titre de* Vestiges of the Natural History of Creation, *et eut dix éditions jusqu'en 1853. Il présente un intérêt particulier, car les arguments anatomiques, paléontologiques, embryologiques et biogéographiques en faveur de l'évolutionnisme y sont exposés d'une manière remarquable, et, comme le montra d'abord Jean Rostand, c'est à Chambers plutôt qu'à Ch. Darwin (1809-1882) que revient le mérite de les avoir rassemblés. Chez Chambers, l'évolution est présentée comme issue d'une loi divine, tout à fait à la manière de la tendance à la progression mise dans la nature par le Dieu de Lamarck; comme ce dernier, Chambers admet l'existence de perturbations dues au milieu, mais il soutient qu'elles sont actuellement peu importantes. Il compare le développement du monde vivant à l'ontogénie d'un individu. L'ouvrage eut un grand succès auprès du public et pourtant le monde scientifique n'en souffla mot.*

Avant d'étudier les autres théories évolutionnistes, il faut signaler que le courant « progressionniste » qui envisage une simple temporalisation de la chaîne des êtres, continua à se manifester au siècle dernier, notamment avec L. Agassiz (1807-1873), et surtout que l'évolutionnisme dirigé de la lignée de Lamarck, Braun ou Chambers, s'il est passé au second plan parmi les savants, a continué à y trouver des adeptes, qu'il s'agisse de L. S. Berg (1876-1950), D. Rosa, H. Przibram ou A. Vandel; on pourrait peut-être ajouter ici L. Cuénot (1866-1951). A la limite de la science, il faut évoquer P. Teilhard de Chardin (1881-1955), à propos duquel on peut malheureusement craindre que le retentissement tardif connu par ses œuvres ne contribue à éloigner bien des savants d'un courant de pensée qui mérite toute leur attention.

L'évolution au hasard

Un autre courant évolutionniste naquit au XVIII[e] *siècle. Il était tout différent et c'est de loin le plus puissant de nos jours. Vers le milieu du siècle, P.-L. Moreau de Maupertuis (1698-1759) développa la théorie suivante : des particules émises par les différents organes du corps et baignant dans les « semences » du mâle et de la femelle s'agrègent d'une façon déterminée pour former l'embryon; mais l'excès ou le défaut des unes ou des autres peut produire des monstres, dont certains sont ce que les néo-darwiniens appelleront des « monstres d'avenir », parce que leurs anomalies peuvent devenir héréditaires, les particules persistant de génération en génération à s'agréger de cette manière d'abord vicieuse. Alors, se demande Maupertuis, « Ne pourrait-on pas expliquer par là comment, de deux seuls individus, la multiplication des espèces les plus dissemblables aurait pu s'ensuivre? Elles n'auraient dû leur première origine qu'à quelques productions fortuites, dans lesquelles les parties élémentaires n'auraient pas retenu l'ordre qu'elles tenaient dans les animaux père et mère; chaque degré d'erreur aurait fait une nouvelle espèce, et, à force d'écarts répétés, la diversité infinie des animaux que nous voyons aujourd'hui serait apparue. » Maupertuis estime que les facteurs du milieu ont pu agir aussi, notamment peut-être chez les hommes, pour « fomenter les parties qui rendent la peau noire ».*

Parmi les combinaisons fortuites de la nature, dit encore Maupertuis, « Il n'y avait que celles où se trouvaient certains rapports de convenance qui pussent subsister. » Et il donne l'explication suivante de la sélection des accidents : « Le hasard... avait produit une multitude innombrable d'individus; un petit nombre se trouvait construit de manière que les parties de l'animal pouvaient satisfaire à ses besoins; dans un nombre infiniment plus grand, il n'y avait ni convenance ni ordre; tous ces derniers ont péri [...]. Les seuls qui soient restés sont ceux où se trouvaient l'ordre et la convenance, et ces espèces que nous voyons aujourd'hui ne sont que la plus petite partie de ce qu'un destin aveugle avait produit. »

Cette conception est extrêmement importante d'un point de vue théorique, quoiqu'elle n'ait joué aucun rôle direct. Nous y trouvons l'idée d'une évolution globale due entièrement au hasard, ce qui ne signifie pas toutefois qu'elle soit entièrement matérielle : en effet, si Maupertuis, pour expliquer l'agrégation des particules lors de la génération, ne se satisfait pas de la seule attraction universelle et fait appel à leur « mémoire », il ne semble pas avoir cherché de support matériel à cette mémoire.

Comme Maupertuis conçoit aussi très clairement la sélection naturelle, il est bien compréhensible que le néo-darwinien Bentley Glass lui ait accordé beaucoup d'attention. On trouve chez Maupertuis le germe du darwinisme, ou du moins de la façon dont on va comprendre celui-ci au XX[e] *siècle.*

Darwin

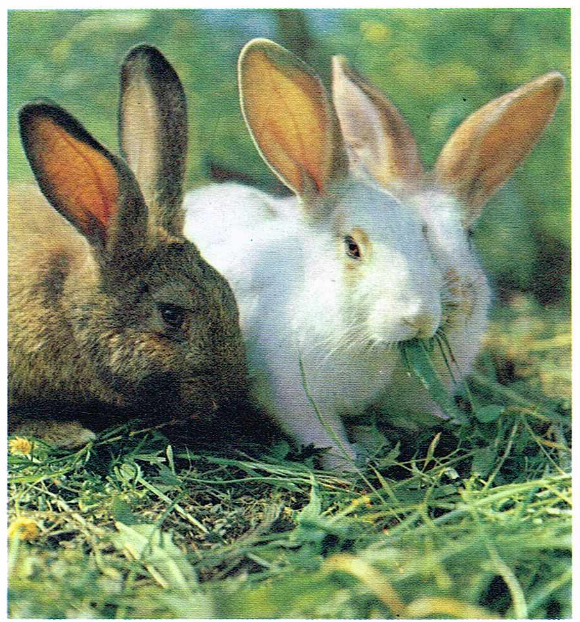
C'est à Darwin qu'est due, avec la publication de son Origine des espèces *en 1859, l'introduction effective de l'évolutionnisme dans la science. Ses arguments étaient ceux de Chambers, plus développés encore car son érudition était immense. Lui-même ne considérait pas comme son mérite essentiel d'avoir accepté l'évolutionnisme et d'en avoir rassemblé les arguments. Mais il apportait une hypothèse mécaniste à l'extrême par laquelle il expliquait tout ou partie de l'évolution et, dans le contexte du milieu du siècle dernier, toute une*

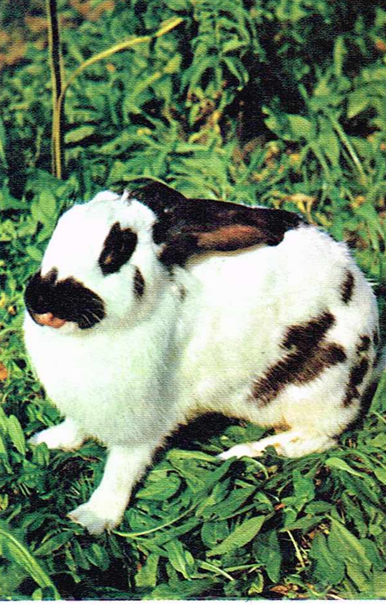
partie très influente du monde scientifique ne fut conquise qu'à ce prix. Refusant les arguments de Chambers qui conduisaient à l'hypothèse d'une évolution dirigée, les savants furent cependant convaincus par ces mêmes arguments lorsque ceux-ci furent interprétés grâce à une autre hypothèse évolutionniste plus à leur goût. Bien peu avaient su ne s'attacher qu'à la seule partie qui subsiste actuellement de ces discussions, au fait de l'évolution elle-même.

Darwin avait constaté que les êtres vivants produisent dans leur descendance de nombreuses et infimes variations, dont les sélectionneurs tirent profit, pour l'isolement de races nouvelles d'animaux ou de plantes domestiques. La nature elle-même va alors agir pour lui comme un sélectionneur : à tout moment, les êtres doivent se défendre contre la compétition des autres êtres et les atteintes du milieu ; dans cette lutte pour la vie, dont l'intensité fut suggérée à Darwin par la lecture de Malthus, beaucoup d'êtres périssent ; ceux qui, pourvus par hasard des aptitudes convenables, survivent, se reproduisent préférentiellement et conduisent à des populations d'êtres adaptés aux conditions ambiantes, qui se maintiendront et s'étendront même tant que ces conditions demeureront stables. Leur modification entraînera par les mêmes processus la naissance d'autres êtres.

Expliquer tous les aspects des êtres vivants par un tel processus nécessite vite des postulats fantastiques. Il faudrait que la possession de quatre pétales par certaines fleurs eût un avantage sur la possession de cinq par d'autres, qui pourtant vivent mêlées aux premières. Il faudrait que les quadrupèdes fussent apparus parmi des animaux à deux, quatre, six, huit ou vingt-quatre pattes et que, bien que les hommes déplorent souvent de n'avoir pas quatre bras, l'expérience eût montré qu'il y avait dans la lutte pour la vie quelque avantage pour un être à n'en posséder que deux, qu'il soit d'ailleurs Reptile ou Mammifère. Si l'on admettait simplement que le nombre de quatre membres s'est maintenu parce que, sans avoir d'avantage particulier, il n'avait du moins pas trop d'inconvénients, se poserait le problème de savoir pourquoi le « hasard » en a créé quatre et non pas six ou huit, nombre qui aurait pu ne pas présenter d'inconvénients, et même avoir beaucoup d'avantages, et pourquoi, en ayant fait apparaître quatre, il n'en a pas fait naître ensuite six ou huit qui auraient pu subsister aussi pour les mêmes raisons, alors que ce même hasard se plaisait chez les Arthropodes à fabriquer tant d'appendices...

Darwin était bien conscient de ces difficultés et c'est pourquoi le darwinisme de Darwin est la chose la plus confuse qui soit, ce qui est tout à l'honneur de son auteur. En divers endroits, Darwin ne fait pas tout reposer sur la sélection ; il sépare les caractères adaptatifs triés grâce à elle de caractères taxonomiques (comme les quatre membres des Tétrapodes), lesquels, définissant des groupes de la classification naturelle, ne semblent rien avoir d'adaptatif. Mais à d'autres moments, il semble vouloir faire naître ceux-là aussi par l'action de la sélection sur la variation « hasardeuse ». Il raille la tendance de Lamarck à la progression, mais il considère, à un moment, comme évident que les variations, sur lesquelles la sélection travaille, ne se font pas en fait au hasard, sans quoi, dit-il, on ne pourrait expliquer la réalisation progressive d'une lignée de plus en plus différenciée dans un sens donné, ce que nous appelons l'orthogenèse. D'ailleurs, pour expliquer les adaptations elles-mêmes, il en vient, comme Lamarck, à admettre une influence modificatrice et non plus seulement sélectionnante du milieu, dont l'importance n'est pas très claire. Toutes ces hésitations traduisent la complexité du problème auquel Darwin s'était attaqué, et soulignent sa bonne foi, mais elles montrent comme on a tort de voir en lui le découvreur d'un monde nouveau. Il n'a ni découvert le fait de l'évolution ni élucidé son mécanisme. Car évidemment, si les variations sur lesquelles la sélection va s'appliquer apparaissent de façon ordonnée, le mécanisme de l'évolution repose au moins pour moitié sur celui qui règle leur apparition. Or, ce mécanisme reste, chez Darwin, sans explication.

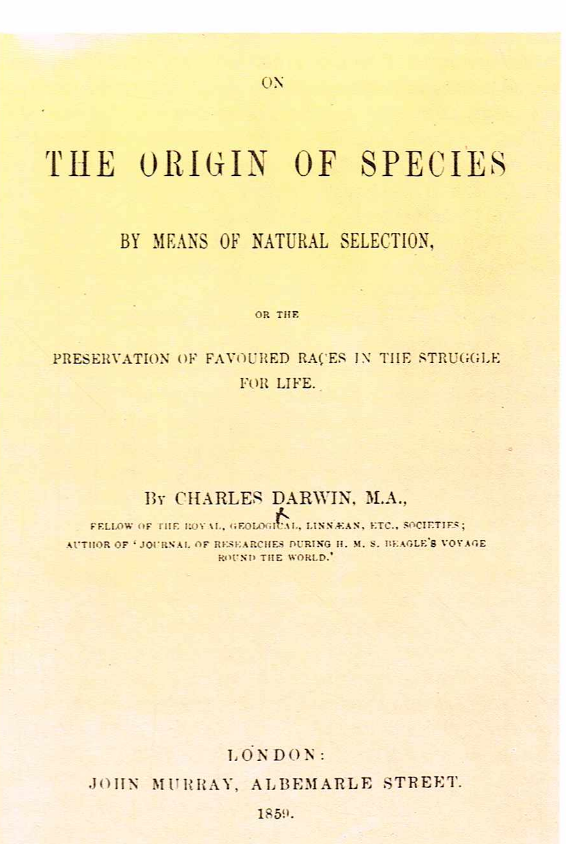

Titus


S.E.F.

▲ Les êtres vivants produisent dans leur descendance de nombreuses variations, dont les sélectionneurs tirent profit ; à gauche et à droite, lapins domestiques de races diverses. D'après Darwin, la lutte pour la vie agit dans la nature comme un sélectionneur. Cette sélection naturelle est le moteur de l'évolution.

Le néo-darwinisme

Par la suite, le darwinisme s'enrichira de la découverte des variations brusques, d'assez grande ampleur et héréditaires, que Darwin connaissait mais avait négligées. Ceux qui leur accorderont crédit pourront envisager de grands changements non adaptatifs ; ainsi, le rôle de la sélection décroîtra : celle-ci se bornera à rejeter les formes radicalement non viables. C. Dareste (1822-1899)


ON

THE ORIGIN OF SPECIES

BY MEANS OF NATURAL SELECTION,

OR THE

PRESERVATION OF FAVOURED RACES IN THE STRUGGLE FOR LIFE.

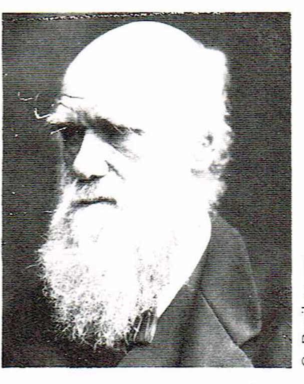
BY CHARLES DARWIN, M.A.,

FELLOW OF THE ROYAL, GEOLOGICAL, LINNÆAN, ETC., SOCIETIES;
AUTHOR OF 'JOURNAL OF RESEARCHES DURING H. M. S. BEAGLE'S VOYAGE ROUND THE WORLD.'

LONDON:
JOHN MURRAY, ALBEMARLE STREET.
1859.

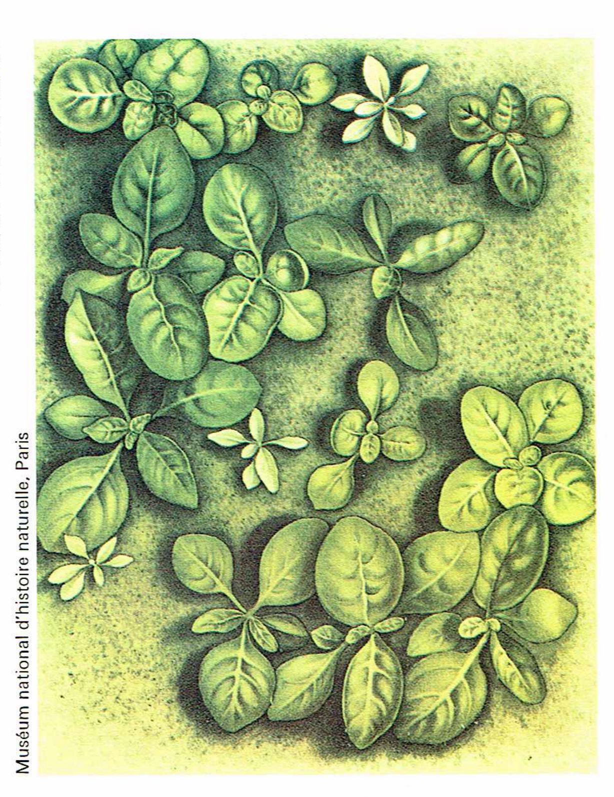
The right of Translation is reserved.

F. Arborio Mella


C. Bevilacqua

◀▲ C'est à* Charles Robert Darwin *(1809-1882) qu'est due, avec la publication, en 1859, de son* Origine des espèces, *l'introduction effective de l'évolutionnisme dans la science.

▶ *A gauche, parmi les cultures d'Oenothera de H. De Vries (1848-1935), apparurent des individus modifiés qui lui permirent de concevoir la notion de variation brusque ou mutation. Ici, des plantules blanchâtres se manifestent dans la postérité d'une plante normalement verte.*



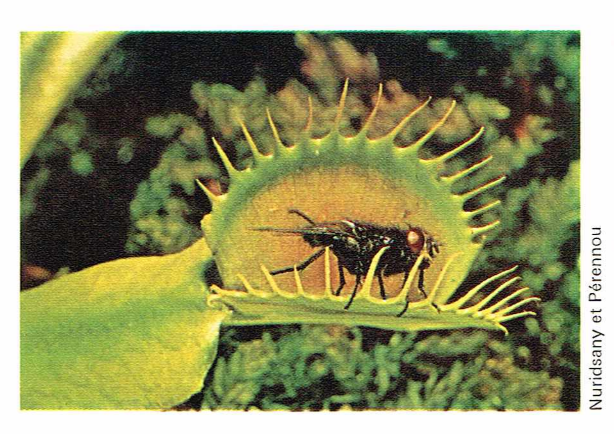
Muséum national d'histoire naturelle, Paris

tentera, comme É. Geoffroy Saint-Hilaire avant lui, d'obtenir des « monstres d'avenir », sources possibles de nouvelles espèces, en agissant sur des embryons de poulet dans leur œuf. Mais avec A. Weismann (1834-1914) apparaît un super-darwinisme qui deviendra le néo-darwinisme : les caractères acquis ne peuvent être héréditaires, pour des raisons aussi bien expérimentales que théoriques ; en outre, tout relent de lamarckisme doit être expurgé. Seule l'apparition de petites et de grandes variations dûment sélectionnées explique l'évolution.

Mais comme Darwin, Weismann se heurte au problème posé par l'orthogenèse : il explique alors qu'il y a sélection germinale. Les particules des cellules sexuelles qui déterminent les caractères sont plus ou moins fortes ; les plus fortes détournent la nourriture à leur profit, ce qui tend à renforcer encore leur importance. L'organisme s'obstine ainsi dans le développement du caractère que contrôlent ces puissantes particules. C'est à une théorie comparable que L. Whyte a abouti de nos jours.

Avec H. De Vries (1848-1935) va se préciser la notion de mutation, variation brusque, imprévisible, héréditaire, dont l'apparition peut être observée dans les cultures et sur laquelle la sélection va pouvoir agir. C'est exactement ce qu'il fallait à Weismann. De Vries jouera un rôle essentiel dans la mise sur pied de la génétique. Bien que ses mutations d'Oenothera ne soient pas en fait de vraies mutations de gènes, mais surtout des cas d'aneuploïdie (modification de quelques unités du nombre de chromosomes), sa découverte va modeler le néo-darwinisme. Nanti des mutations qui fournissent l'explication de la variabilité de Darwin, le mutationnisme va prendre le nom de néo-darwinisme, ou théorie synthétique de l'évolution. Rejetant justement toute influence directe du milieu, celle-ci va acquérir droit de cité dans les pays de langue anglaise, puis bientôt un peu partout, surtout après que la génétique aura été fermement établie. Dans le premier quart de ce siècle, il y avait eu plutôt une certaine désaffection pour le darwinisme.

Mais la théorie synthétique est maintenant la conception dominante. Le terme « synthétique », dû à G.G. Simpson, semble assez malheureux, car cette théorie ne constitue guère une synthèse des diverses explications possibles. C'est plutôt une théorie partielle, que Darwin n'aurait pas risquée.



Nuridsany et Pérennou

LA STRUCTURE DES ÊTRES VIVANTS

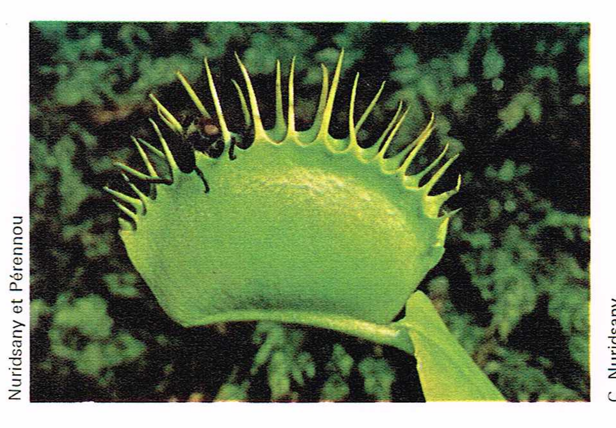
On a reconnu depuis toujours, nous l'avons vu, l'importance de la forme acquise par un être vivant pour le caractériser. Il existe, d'ailleurs, des cas où la vie peut être interrompue par des conditions rigoureuses de température et d'humidité tandis que la forme subsiste, macroscopiquement comme moléculairement, en attendant que de meilleures circonstances permettent une véritable résurrection : c'est l'anabiose, qui se produit normalement chez divers animaux et végétaux (Mousses et Tardigrades qui les habitent) et qu'on peut obtenir expérimentalement pour les organes ou tissus d'autres êtres.

Il faut voir de plus près comment cette forme a été comprise par les biologistes. Les êtres où la vie est la plus développée sont justement les plus complexes et il est bien naturel de chercher à les décomposer en éléments plus simples. Mais rappelons immédiatement qu'il faut se garder d'imaginer qu'on a compris l'édifice parce qu'on a vu de quels matériaux il est composé. Reste le problème de l'organisation sous-jacente à leur mise en place.

Matière vivante et matière inerte

Comme les êtres vivants se réduisent tous finalement en poussière, nous n'avons pas été surpris de les voir interprétés en fonction des éléments de la chimie ancienne : dans l'Antiquité, ils comportaient du feu, de la terre, de l'eau, de l'air ou une partie seulement de ces éléments, et chaque organe était plus ou moins riche en certains de ces éléments. L'idée que les mêmes éléments forment le vivant et l'inerte est extrêmement répandue dans toute l'histoire. Si l'on admettait une matière vivante différente de la matière inerte, elle ne constituait pas tout l'organisme. Nourris d'humus, les végétaux n'étaient pour Linné que de l'humus, et pareillement les animaux qui s'en repaissent. Les vues de Buffon d'après lesquelles l'être vivant absorbe à la fois des molécules inertes et des molécules organiques, mais ne conserve que ces dernières, paraissaient faire exception ; pourtant, il semble que, pour lui, la même matière de base forme les deux matières.

Cela explique que lorsqu'en 1828 F. Wöhler (1800-1882) prépara l'urée (substance organique), par isomérisation du cyanate d'ammonium (substance minérale), l'événement, important et remarqué d'un point de vue chimique, n'eut, contrairement à ce qu'on écrit parfois encore, aucune répercussion sur le crédit qu'on pouvait accorder au vitalisme. Vitalistes ou non, les biologistes admettaient très généralement que les vivants sont faits de matière inerte ; la synthèse artificielle d'une substance présente chez un être vivant par un procédé de toute évidence très différent du processus naturel ne paraissait nullement aux vitalistes remettre en cause leur théorie, dans la mesure où il ne s'agit que d'une partie de l'être en question. Toutefois, si l'on synthétisait chimiquement un



Nuridsany et Pérennou



C. Nuridsany



C. Nuridsany

◀▲ *Ces quatre photos (page ci-contre à droite et ci-dessus) montrant la capture et l'ingestion d'une mouche par une dionée (« attrape-mouches »),* Dionaea muscipula, *illustrent un mode de nutrition rare chez les plantes : la prédation et la digestion des proies.*

être vivant entier, on aurait, semble-t-il, montré que celui-ci ne relève pas du vitalisme vrai, puisqu'il ne serait pas nécessaire de lui ajouter une âme immatérielle pour le faire vivre.

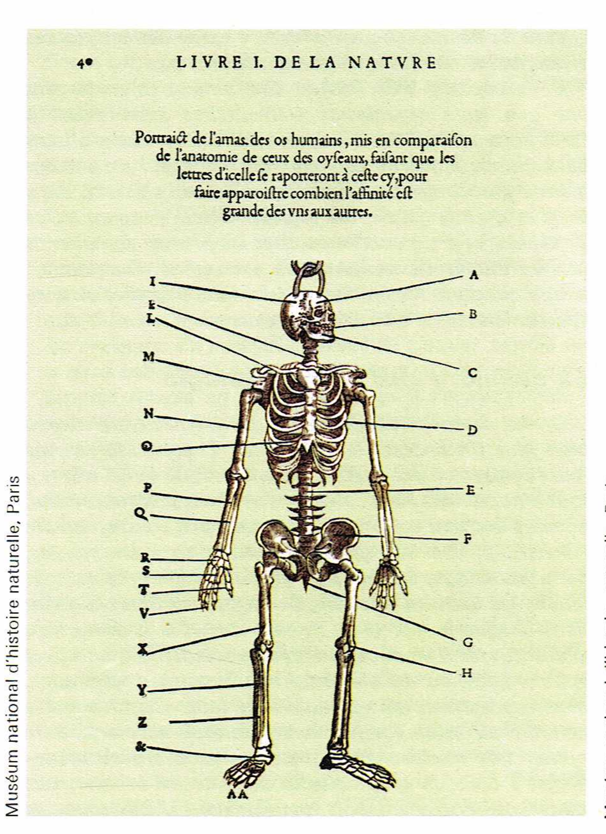
Tissus, organes et organisation

Entre la structure globale de l'individu et les éléments chimiques qui le constituent, le vide est trop grand : il faut chercher des structures intermédiaires à partir desquelles on puisse expliquer par degrés la complexité de l'ensemble.

Pour Aristote, qui sur ce sujet suit Platon d'assez près, les éléments forment d'abord des structures homéomères, *comme la chair, l'os ou le sang, organisées, mais homogènes dans leur composition. Des portions de ces substances sont à leur tour réunies suivant un plan précis pour former des structures hétérogènes, qui sont les organes.*

Théophraste, élève d'Aristote, ne manqua pas d'appliquer cette conception aux plantes et, deux millénaires plus tard, on retrouve chez Bichat (1771-1802) une conception fort comparable : des tissus, qui, il est vrai, ne sont plus tout à fait homogènes, sont rassemblés de différentes manières pour former divers organes dont les fonctions composites sont celles des tissus. Dans la période intermédiaire, beaucoup d'auteurs connaissaient évidemment l'existence des tissus, sans utiliser le terme. Signalons ici que la notion de tissu est étrangère à celle de cellule ; l'histologie dans son sens actuel ne pourra être envisagée qu'après l'établissement de la théorie cellulaire sur laquelle nous reviendrons.

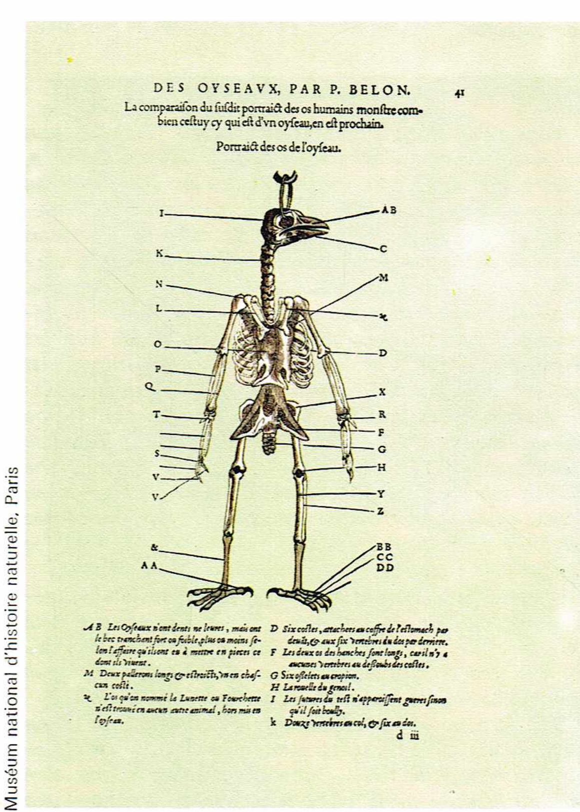
Dans l'organisme, les organes entretiennent entre eux des rapports et forment des appareils destinés à la réalisation d'une importante fonction. L'étude des organes est l'anatomie, dont le nom signifie étymologiquement dissection. Déjà pratiquée dans l'Antiquité, notamment par Aristote, qui semble avoir utilisé des planches anatomiques pour ses exposés, cette science connut une grande vogue au XVIe siècle ; à cette époque, A. Vésale (1514-1564) fut la figure marquante du renouveau de l'anatomie humaine. L'anatomie animale fit aussi de grands progrès, et la comparaison par P. Belon (1517-1564) entre le squelette de l'homme et celui de l'oiseau est justement célèbre, quoiqu'elle soit demeurée sans suite chez son auteur. Il s'agissait d'un essai d'anatomie comparée, dans lequel Belon se fondait sur la forme et la place des os des deux êtres en question pour les rapprocher. Cette méthode n'était pas très nette chez Aristote, qui comparait effectivement des organes, mais surtout d'après leurs fonctions. *Le terme même d'anatomie comparée est utilisé surtout depuis N. Grew (1641-1712), auteur d'un ouvrage sur l'appareil digestif et d'un traité d'anatomie végétale. La*



40 LIVRE I. DE LA NATVRE

Portraict de l'amas des os humains, mis en comparaison de l'anatomie de ceux des oyseaux, faisant que les lettres d'icelle se raporteront à ceste cy, pour faire apparoistre combien l'affinité est grande des vns aux autres.

Muséum national d'histoire naturelle, Paris



DES OYSEAVX, PAR P. BELON. 41

La comparaison du susdit portraict des os humains monstre combien cestuy cy qui est d'vn oyseau, en est prochain.

Portraict des os de l'oyseau.

AB Les Oyseaux n'ont dents ne leures, mais ont le bec tranchant fort ou foible, plus ou moins selon l'affaire qu'ils ont eu à mettre en pieces ce dont ils viuent.

M Deux pallerons longs & estroicts, vn en chascun costé.

L'os qu'on nommé la Lunette ou Fourchette n'est trouvé en aucun autre animal, hors mis en l'oyseau.

D Six costes, attachees au coffre de l'estomach par deuãt, & aux six vertebres du dos par derriere.

F Les deux os des hanches sont longs, car il n'y a aucunes vertebres au dessoubs des costes.

G Six osselets au cropion.

H La rouelle du genoil.

I Les futures du test n'apparoissent gueres sinon qu'il soit boully.

k Douze vertebres au col, & six au dos.

d iii

Muséum national d'histoire naturelle, Paris

▼ André Vésale *(1514-1564) fut, au XVIe siècle, la figure marquante du renouveau de l'anatomie humaine.*



Ferruzi

◀ *Ces deux gravures illustrent la célèbre comparaison entre le squelette de l'Homme et celui de l'Oiseau que présenta P. Belon (1517-1564) dans son* Histoire de la nature des Oiseaux *(Paris, 1555).*



S. Yoff - Jacana

▲ **Pour Goethe, le métamère est le véritable animal élémentaire ; la métamérisation est manifeste chez les Annélides, ici** Hermodice caruncula**ta.**

comparaison des plantes et des animaux supérieurs révéla de grandes similitudes dans le plan de leur organisation. Celles-ci ne surprirent pas : depuis longtemps, les êtres étaient considérés comme des reflets plus ou moins fidèles d'une même divinité, ou du moins, chez Aristote, comme ayant celle-ci pour cause finale. É. Geoffroy Saint-Hilaire et ses adeptes vont pousser l'anatomie comparée à l'extrême et comparer dans tous leurs détails les organisations respectives d'un Vertébré, d'un Mollusque et d'un Arthropode ! Cuvier devait réagir contre ces efforts stériles, ce qui sera le sujet de sa fameuse contreverse avec Geoffroy Saint-Hilaire, en 1830.

C'est avec Robinet et surtout Goethe qu'apparait la notion de type morphologique *: si les êtres se ressemblent, c'est qu'ils sont des manifestations multiformes et plus ou moins parfaites d'un type idéal unique, qui, on le voit, n'est pas sans ressembler au Dieu d'Aristote. Cuvier aussi reconnut le bien-fondé de la notion de type, mais à condition d'admettre un nombre suffisant de types auxquels on ne rapportera que des animaux réellement comparables.*

Multiplicité de l'être vivant

Nous avons jusqu'à présent décomposé l'individu, tout en reconnaissant implicitement qu'il mérite ce nom, c'est-à-dire que toutes ses parties doivent être présentes pour en faire un être vivant. Voyons maintenant les tentatives de remettre en cause cette individualité. Les êtres vivants au sens usuel sont-ils bien les atomes de la vie ? Leur structuration demande cette explication ; par exemple, pourquoi y-a-t-il une tête différente de la région postérieure ? Pour tenter de rendre compte de ce fait, les penseurs vont d'abord admettre que l'organisme est multiple et constitué d'organismes plus simples, fondamentalement identiques, reflets eux-mêmes du type animal ou végétal, qu'il suffira alors de concevoir de façon bien plus simple. La tête diffère du tronc ? Goethe répond que ce n'est là qu'une apparence parce qu'au niveau ostéologique, tous les deux sont en fait constitués de vertèbres : les lombaires sont différentes des dorsales, les céphaliques sont plus différentes encore, et voilà tout !

La suite des événements montra que cette idée contenait une part de vérité : une grande partie de la tête correspond à des métamères homologues de ceux du tronc (il est vrai qu'aucune des homologies de détail envisagées à cette époque ne s'est confirmée).

Mais il n'est pas indispensable d'accorder une valeur d'organisme aux éléments ainsi reconnus ; or, c'est ce qui se produisit souvent. On obtint ainsi une explication un peu illusoire de la complexité de l'organisation, par recours à un atomisme biologique. De même que le monde tout entier est constitué d'atomes, de même, à un niveau supérieur, les êtres vivants seront formés d'êtres plus simples. Il reste évidemment à expliquer le mode de différenciation et d'union des êtres élémentaires.

Au XVIIe siècle, Cyrano de Bergerac envisageait que les grands animaux sont constitués de petits animaux. Au siècle suivant, on considérera l'arbre comme une colonie de rameaux poussant les uns sur les autres d'année en année. Goethe, d'abord partisan de cette interprétation très répandue jusqu'au siècle dernier, montra en 1790 que les plantes supérieures sont formées d'une succession de feuilles essentiellement identiques, d'abord végétatives puis sexuées et constituant la fleur. Cette interprétation est toujours admise, mais plus tard, Goethe prolongea sa théorie en admettant que la véritable plante est finalement la feuille, et la plante apparente une colonie de plantes élémentaires. De même, disait-il, les Insectes sont formés de parties successives (anneaux ou métamères), mais, à la différence des feuilles, tous les métamères sont ici déjà formés à la naissance de la larve. Chez lui, donc, le métamère est finalement le véritable animal élémentaire.

Cette idée se retrouve chez A. Moquin-Tandon (1804-1863) qui, en 1827, explique que les Annélides ou les Arthropodes sont des colonies dans lesquelles un individu, la tête, domine (au moins momentanément) et dirige l'ensemble. A. Dugès (1797-1838) distingue en 1832 des animaux bisériés, formés de deux rangées parallèles d'animaux élémentaires, des animaux radiaires, dont les composants sont disposés de façon rayonnante, et des animaux en grappe. Pour lui aussi, la centralisation des animaux complexes augmente de plus en plus au fur et à mesure qu'on s'élève dans l'échelle de la nature. Même à la fin du XIXe siècle, E. Perrier (1844-1921) réinterprète encore l'ensemble des êtres vivants comme des « colonies animales », qu'il compare aux « colonies » végétales de feuilles.

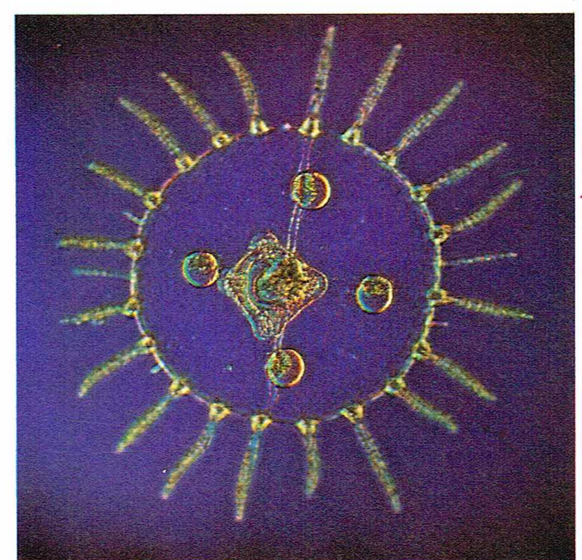
Chez les botanistes, ces conceptions ont donné naissance au phytonisme. *Dès 1832, E. Meyer (1791-1858) développe des vues comparables à celles de Goethe. Plus tard, C. Gaudichaud (1789-1864) parle dans le même sens, et, en 1925, G. Chauveaud (1859-1933) découpera encore les plantes en phyllorhizes, c'est-à-dire en plantes élémentaires munies chacune d'une racine.*

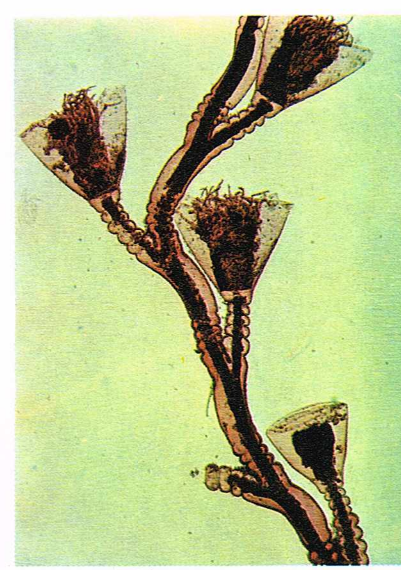
A l'exception d'E. Perrier, ces auteurs n'envisagent pas que leurs organismes élémentaires aient existé à l'état libre. Malgré leurs erreurs, on doit garder de leurs conceptions l'idée de la métamérisation, qui est un des grands problèmes de l'évolution. Elle est présente dans la plus grande partie du règne animal, y compris les Vertébrés, et a été confirmée chez les plantes supérieures par les études de morphologie externe et d'anatomie : la tige qui porte les feuilles se laisse décomposer avec sa stèle en éléments emboîtés correspondant à celles-ci.

La cellule, l'œuf et la cytologie

On fut amené à découper les organismes à un niveau bien plus fin encore. D'Aristote et Théophraste à nos jours en passant par Buffon, on a remarqué que l' « âme » tout entière de l'être vivant doit être partout en lui, puisque souvent un fragment est susceptible de reproduire l'ensemble ; ceci est spécialement net chez les plantes, où le bouturage, parfois à partir d'un simple fragment de feuille, est souvent possible. Le tout parait donc contenu dans chaque partie, et H. Driesch voyait là la preuve du vitalisme vrai. Il en découle l'idée de scinder ce qu'on peut appeler individu *en éléments très simples d'apparence, mais susceptibles de reproduire le tout. C'est ce qui a conduit au siècle dernier un botaniste allemand à la notion très confuse d'anaphyte, qui souvent se superposait à celle de cellule ; cette dernière est la seule que nous examinerons, tout en signalant l'existence de*


S. Yoff - Jacana


C. Carré - Jacana


Nuridsany - Reichert

▲ A. Dugès *(1797-1838), pour qui les animaux sont des colonies, en distingue des radiaires (à gauche,* Aglaophenia pluma *— Cnidaire — et au centre, une leptoméduse) et d'autres en grappe (à droite, colonie d'Hydrozoaires* [Obelia gelatinosa]).

nombreuses autres théories micrôméristes, *décomposant l'organisme en éléments hypothétiques qui ne sont pas des cellules et que nous retrouverons à propos de l'hérédité.*

R. Hooke (1635-1703) avait déjà remarqué l'existence dans le liège de cavités vides qu'il nomma cellules, mais il n'attribua pas de signification spéciale à ce fait. Dans leurs études d'anatomie végétale, M. Malpighi (1628-1694) et N. Grew virent des cellules, mais tandis que le premier les interprétait comme des utricules juxtaposés les uns aux autres, le second y voyait des cavités ménagées dans une substance fondamentale, elle-même fibrillaire. Aucun des deux ne chercha à interpréter les êtres vivants d'une manière nouvelle à partir de ces observations.

Au milieu du XVIIIe siècle, K. F. Wolff (1738-1794) observa la formation de cavités au sein de ce qu'il croyait être la substance fondamentale produisant l'embryon. Il s'agissait pour lui d'utricules séparés, susceptibles de devenir des parois de vaisseaux et des nerfs. Par contre, A. de Haller (1708-1777) adopta pour les animaux une interprétation comparable à celle de Grew, car, dans la mesure où son intérêt se concentrait sur les muscles et les nerfs, la fibre était pour lui l'élément fondamental.

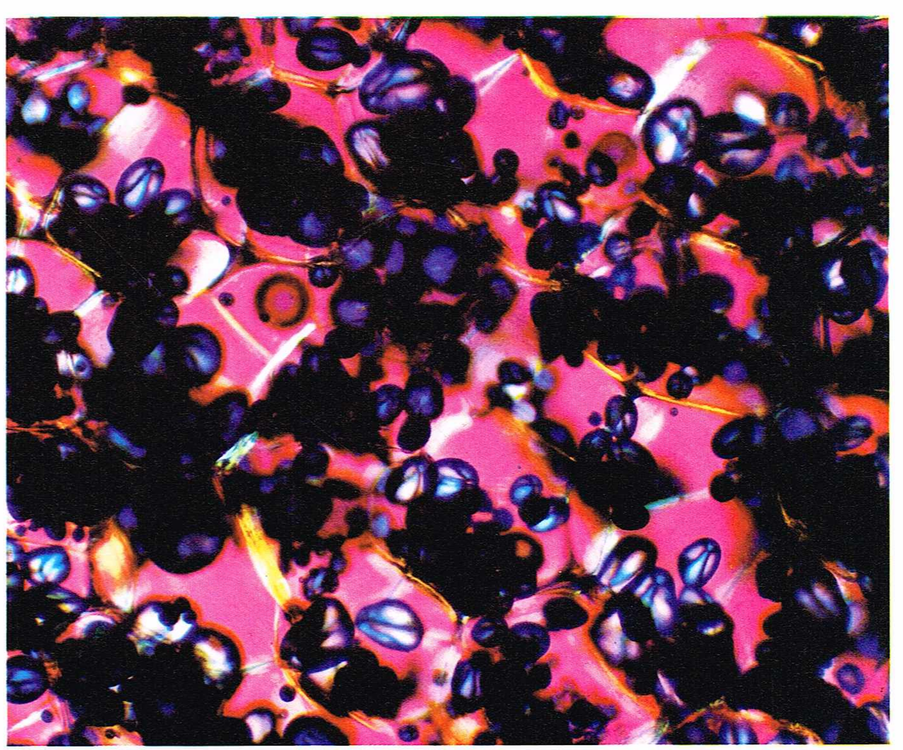
Au début du XIXe siècle, l'interprétation de Grew et Haller eut des partisans, en particulier C. F. de Mirbel (1756-1854) parmi les botanistes. Mais d'autres, surtout K. Sprengel (1766-1833) et G.R. Treviranus, montrèrent à leur tour que, chez les plantes, les cellules sont des entités distinctes que l'on peut artificiellement séparer. En fait, il s'en fallait de beaucoup que toutes les cellules que l'on voyait alors fussent de véritables cellules. Chez les animaux, il s'agissait souvent de simples cavités dans le tissu conjonctif lâche. Des grains d'amidon ainsi que de simples figures en diffraction dues à l'imperfection des microscopes étaient souvent aussi pris pour des cellules.

En 1839, T. Schwann (1810-1882), qui s'était déjà fait connaître par de très importants travaux, publia des observations précises sur des cellules animales qu'il sut voir dans de nombreux tissus et postula l'existence d'une structure cellulaire de tous les êtres vivants. La cellule lui apparaissait comme la plus petite unité viable. Mais Schwann, influencé par le botaniste M. J. Schleiden (1804-1881), admettait aussi, à la manière de Wolff, la formation des cellules à partir d'une substance fondamentale, le cytoblastème, par concrétion du nucléole, autour duquel se forme le noyau, bientôt entouré du cytoplasme et de sa membrane. Le noyau avait été reconnu d'abord en 1787 par F. Fontana (1731-1805), puis en 1833 par R. Brown (1773-1858) chez les végétaux, et revu par Schwann, en particulier, dans les cellules de la chorde de Poisson et de Batracien.

Parmi les autres auteurs qui, vers cette époque, s'intéressèrent à ces questions, il faut citer le botaniste P. J. F. Turpin (1775-1840) qui croyait déceler un mode de reproduction endogène des cellules végétales à partir de grains de « globuline » produits par leur paroi (lesquels n'étaient en fait que des grains d'amidon). La plus petite unité viable était pour lui le grain de globuline ; il était donc ce que J. R. Baker a nommé un « globuliste » et non pas l'auteur d'une véritable théorie cellulaire. On doit signaler que l'on sait maintenant obtenir un végétal entier à partir d'une seule ou de quelques-unes des cellules de ce dernier.

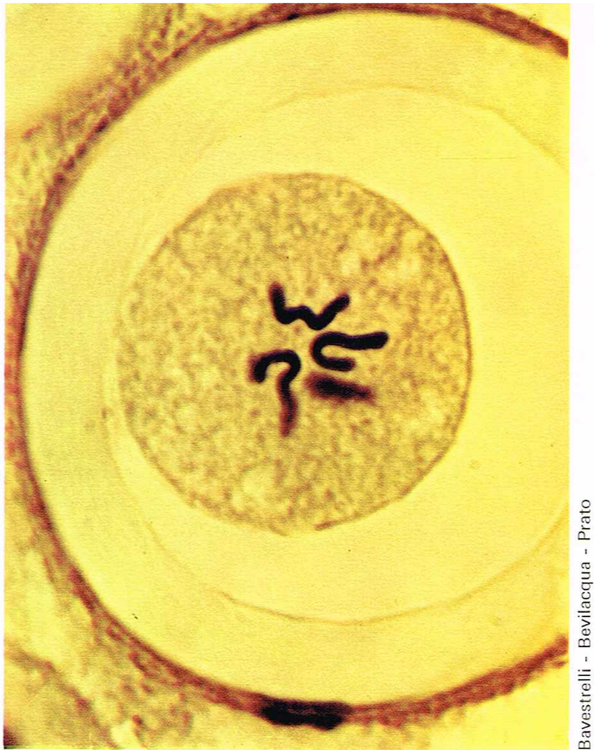
Lorsque Treviranus eut montré l'indépendance des cellules végétales, Mirbel adopta sa manière de voir en 1835. Il admit alors aussi que les utricules (cellules) se forment à la superficie d'utricules pères, le plus souvent entre ceux-ci, ou bien à l'intérieur d'eux. De plus, pour ce qui est de la reproduction, il émit l'hypothèse que l'œuf n'est pas autre chose qu'une cellule à partir de laquelle se forment toutes celles de l'individu. Il suggéra

▼ *Les grains d'amidon, mis en évidence, ici, par coloration à l'iode et par observation en lumière polarisée, furent, souvent encore au début du XIXe siècle, confondus avec des cellules du fait de l'imperfection des microscopes.*

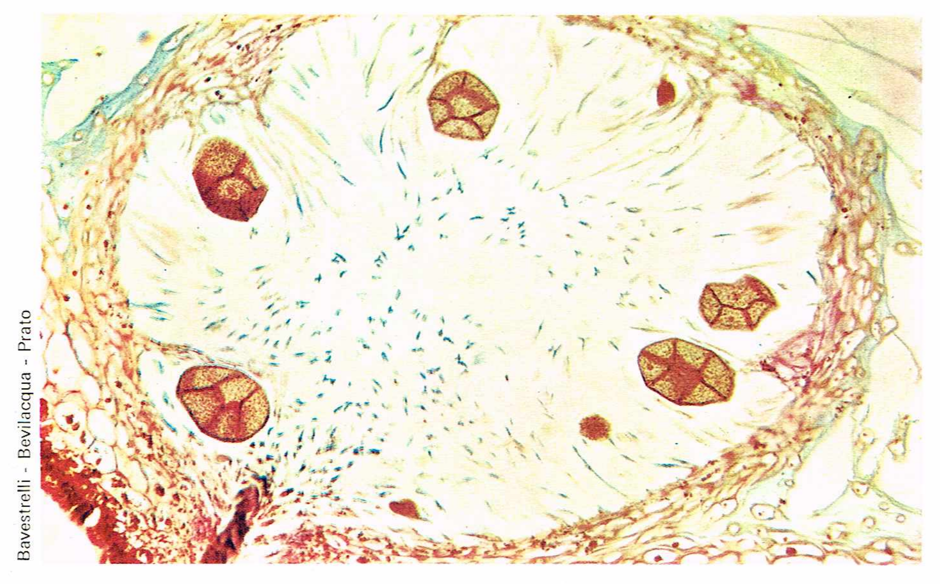

P. Castano



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

▲▶ *A gauche, conceptacles où se forment les cellules sexuelles mâles (en haut) et femelles (en bas) du* Fucus, *dont, en 1855,* G. Thuret *observa le premier le rapprochement. La réduction chromatique fut mise en évidence, en 1833, par* E. Van Beneden *(1845-1910) chez l'ascaris; à droite, division de la cellule œuf d'*Ascaris megalocephala.

alors en passant l'interprétation cellulaire des gamètes et de la fécondation.

Ce n'est qu'en 1856 que N. Pringsheim (1823-1894) observa chez l'Algue Oedogonium *l'union des cellules sexuelles, après que G. Thuret (1817-1875) eut vu leur rapprochement l'année précédente chez le* Fucus*; et c'est en 1877 que H. Fol (1845-1892) montra l'entrée d'un unique spermatozoïde dans l'œuf d'étoile de mer. Déjà, en 1843, M. Barry avait vu un spermatozoïde dans l'œuf de lapin et, en 1852, G. Newport (1803-1854) avait montré que des spermatozoïdes s'engagent dans la membrane cytoplasmique de l'œuf de triton. Au siècle précédent, d'ailleurs, L. Spallanzani (1729-1799) avait observé que le sperme de grenouille dénué de spermatozoïde n'est pas fécondant, mais il était de ceux qui pensaient que l'embryon provient de l'ovule, et ne pouvait en conséquence interpréter correctement sa trouvaille. Lorsqu'en 1824, J. L. Prévost (1790-1850) et J. B. Dumas (1800-1884) confirmèrent cette observation, ils furent conduits à attribuer un rôle fécondant au spermatozoïde. A la fin du XIXe et au XXe siècle, le phénomène de la fécondation fit l'objet de belles analyses expérimentales commencées par J. Loeb (1859-1924) et E. Bataillon (1864-1953), et ce dans le dessein de se passer de la fécondation afin de déterminer la parthénogenèse expérimentale.*

Parallèlement, la notion de protoplasme, qui d'abord ne signifiait pour J. E. Purkyné (1787-1869) que la substance fondamentale à partir de laquelle les cellules s'organisent (cytoblastème), fut précisée en 1852 dans un sens plus moderne par H. von Mohl (1805-1872), et, en 1846, C. Naegeli (1817-1891) montra que, la plupart du temps, les cellules se multiplient en fait par division. Il observa aussi que le noyau des cellules des poils staminaux de Tradescantia *se divise, mais n'en admit pas moins la formation libre des noyaux dans le cas général. La multiplication des cellules animales par le même processus de division fut bientôt démontrée par R. Remak (1815-1865). R. Virchow (1821-1902), pour sa part, soutint bien que les cellules naissent d'une cellule préexistante* (omnis cellula e cellula)*, mais admettait encore la naissance endogène de celle-ci dans leur mère.*

Les travaux des biologistes permirent ensuite d'enrichir la cytologie, comme le note Hughes, d'un adage, « omnis nucleus e nucleo *». W. Hofmeister (1824-1877) étudia à nouveau la division du noyau des cellules des poils staminaux de* Tradescantia*, mais ne reconnut pas de chromosomes.*

L'étude de la division (segmentation) des œufs permit de voir le fuseau achromatique ainsi que des asters qui furent diversement interprétés. Les chromosomes furent reconnus, en 1879-1880, par E. Strasburger (1844-1912) chez les plantes, et W. Flemming (1843-1915) chez les animaux, ce dernier chercheur développant l'utilisation des colorations. A dire vrai, dès 1876, E. G. Balbiani (1826-1899) avait indiqué l'apparition des chromosomes puis leur division, qu'il croyait transversale, dans l'épithélium ovarien d'une sauterelle, et c'est ainsi que Strasburger les vit d'abord se diviser.

La réduction chromatique fut mise en évidence en 1883 chez l'Ascaris par E. Van Beneden (1845-1910); cette découverte permit de saisir le sens des globules polaires qu'on connaissait à l'œuf, mais pour Van Beneden, les chromosomes ne se divisaient pas à la première division. C'est un peu plus tard que Th. Boveri (1862-1915) et O. Hertwig (1849-1922) saisirent le véritable déroulement du processus, en le retrouvant dans la lignée mâle. Ces découvertes furent étendues aux végétaux en 1888-1891 par E. Strasburger et L. Guignard (1852-1928). Enfin, en 1898-1899, S. G. Navachine (1857-1930) et Guignard découvrirent la double fécondation chez les Gymnospermes et les Angiospermes, mécanisme qui fait toujours l'objet de recherches au microscope électronique.

Ce sont ces découvertes qui ont permis à E. Overton d'apporter, en 1893, le complément cytologique essentiel à celles d'Hofmeister sur l'alternance des générations : le gamétophyte formateur des gamètes est tout entier formé de cellules à nombre réduit de chromosomes

(haploïdes), ce qu'il put vérifier dans le cas de l'endosperme de Ceratozamia *(Cycadacées). De plus, ces progrès rejoignaient magnifiquement les conclusions de la génétique renaissante, et permettaient de créer une* histologie, *science des tissus, qui est à présent fondée sur l'analyse de leurs constituants cellulaires et de leurs interactions.*

La cytologie, en révélant que la cellule est bien l'élément structural de l'être vivant, allait tendre à se rapprocher des sciences physiologiques et biochimiques : en effet, c'est au niveau de la cellule que se produisent toutes les réactions du métabolisme, et toutes les actions des organes sont le résultat des processus intervenant dans leurs cellules. Une cytophysiologie ne devait donc pas tarder à naître.

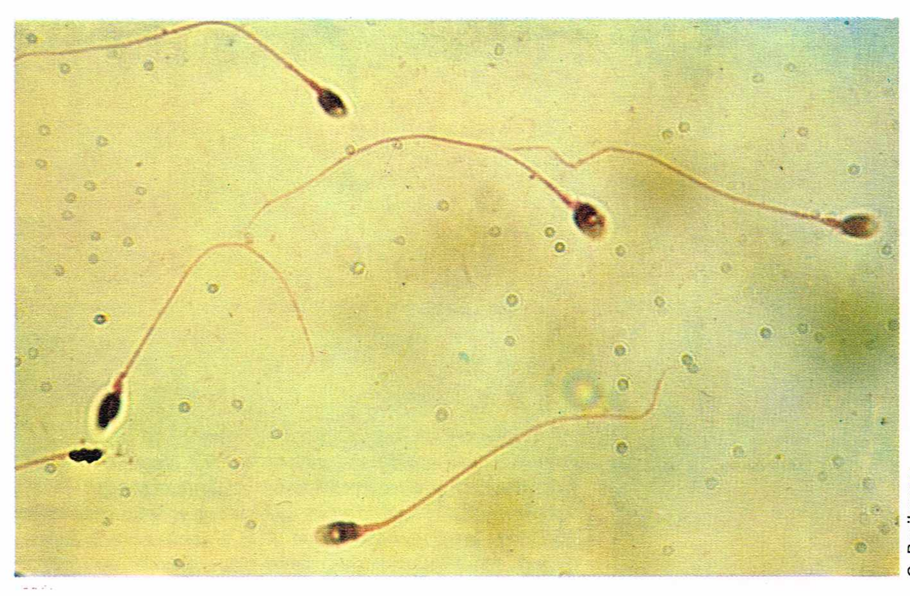
Mais si toutes les cellules sont de petits êtres vivants constituant les grands, et qu'à ce niveau l'atomisme biologique se soit effectivement vérifié, si toutes les cellules sont potentiellement des œufs qui limitent étroitement leurs possibilités, lorsqu'elles se multiplient et restent adhérentes pour former un être complexe pluricellulaire, le problème se pose de la source et du transfert de l'information qui commande leur différenciation. D'ailleurs, tous les organismes ne sont pas cellularisés, et certains forment des siphons, ou syncytiums, à nombreux noyaux. Et même divisé en cellules, l'organisme reste un tout.

Si les espoirs d'atomisation de la vie sont de plus en plus confirmés, le problème de l'intégration de l'organisme reste fondamental, et il faut au moins que certains des « atomes » vitaux (cellule, noyau, acide désoxyribonucléique) possèdent l'information nécessaire pour la réaliser. Au siècle dernier, Claude Bernard introduisit la notion de milieu intérieur *pour rendre compte des corrélations qui règlent l'activité des diverses cellules de l'organisme. Chacune, disait-il en 1878, travaille à préparer le milieu qui convient au fonctionnement de toutes les autres. Le phénomène de sécrétion interne qu'il découvrit a permis de rendre compte d'une partie de ces interactions. Les méthodes de culture* in vitro *d'organes, de cellules, et même d'organites servent précisément à analyser ce milieu intérieur en le reconstituant et en le modifiant. A l'échelle de la cellule, un milieu intérieur existe aussi, préparé par les divers organites. Par exemple, les mitochondries et l'ergastoplasme échangent des lipides dans une cellule végétale, et des protéines cytoplasmiques assurent ce phénomène qui doit permettre des corrélations entre ces organites (A. Ben Abdelkader, 1973).*

DÉVELOPPEMENT ET GÉNÉTIQUE

Depuis toujours, on a cherché à se faire une idée du mystère de la génération. Nous avons déjà parlé des vues d'Aristote ; pour lui, la génération n'est pas essentiellement différente de la nutrition : elle met en cause le sang, spécialement le sang très élaboré de la semence mâle. Et, quand Aristote cherche une base matérielle à la ressemblance du produit avec ses parents, il explique que ce sont les mouvements propres qui, communiqués au sang de la semence, transmettent à la génération suivante la forme et l'âme. Il avait aussi discuté la possibilité d'une préformation totale de toutes les parties des animaux dans la semence mâle, parties qui n'auraient plus qu'à grandir, mais il rejetait cette thèse.

Pourtant, avant Aristote, la simple observation que les enfants ont beaucoup de traits de leur mère avait conduit Anaxagore, Parménide, Épicure et ses disciples à affirmer que deux semences, l'une mâle et l'autre femelle, sont nécessaires à la formation de l'embryon. Plus tard, Galien postula aussi l'existence d'une semence femelle, mais celle-ci ne servait qu'à la formation des annexes embryonnaires. Signalons, toutefois, que l'idée judicieuse de la participation de la mère conduira parfois à des erreurs : Buffon verra chez la femelle une liqueur comparable à celle du mâle, avec des animalcules !



C. Bevilacqua

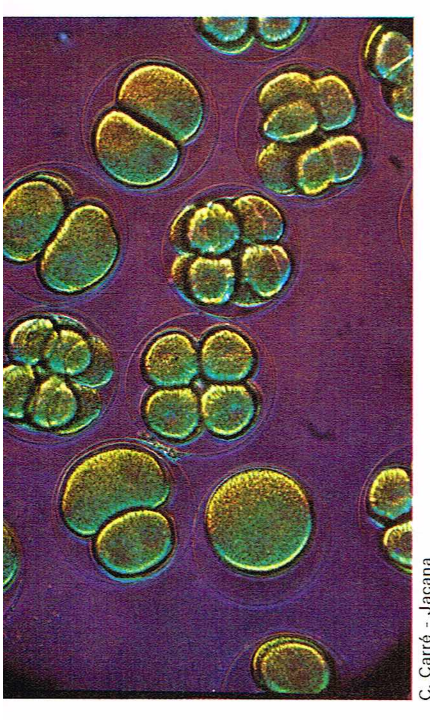
▲ ***Le microscope permit à*** **A. Van Leeuwenhoek** ***de découvrir, en 1679, les spermatozoïdes ou animalcules spermatiques ; ici, spermatozoïdes humains.***

Dans la première moitié du XVIIe siècle, W. Harvey (1578-1657) accorda une grande importance à l'œuf et vit dans la fécondation une sorte de « contagion » par la semence mâle ; cette dernière, sans qu'il y ait de transfert d'éléments matériels, induit le développement de l'œuf comme le ferait un aimant. Le développement du microscope permit à A. Van Leeuwenhoek (1632-1723) de découvrir, en 1679, les spermatozoïdes, ou animalcules spermatiques. Étant donné la tendance très générale d'attribuer au mâle un rôle prépondérant, on ne fut pas surpris de rencontrer ces petits êtres dans sa semence et on crut même qu'ils contenaient de petits fœtus. N. Hartsoeker (1656-1725) ou F. de Plantade (1670-1741) en dessinèrent même, le premier sans jamais prétendre les avoir vus.

Ainsi s'établit la théorie animalculiste *: le produit est préformé dans les animalcules mâles, et il n'y a pas de raison pour que le fœtus ne comporte pas lui-même les germes de la génération suivante et ainsi de suite : il y a* emboîtement.

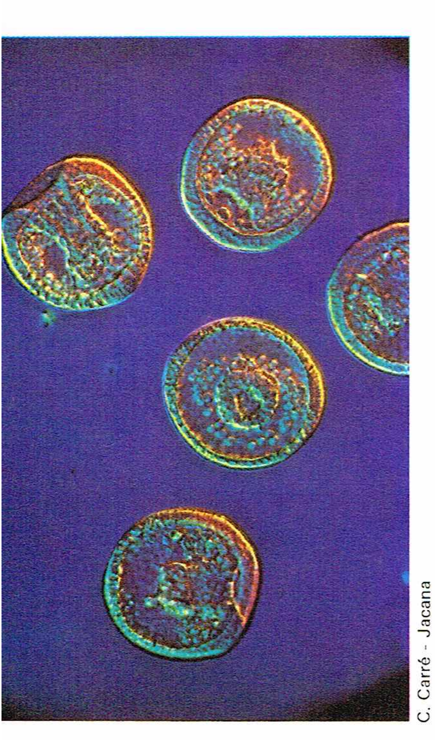
Mais Malpighi, qui peut être considéré comme le fondateur de l'embryologie animale, avait vu qu'un œuf de poule non couvé présente déjà un embryon. En fait, cet œuf avait été abandonné trop longtemps au soleil et son développement avait commencé. Malpighi étudia le développement embryonnaire du poulet avec grand soin, mais de son observation initiale on tira une conclusion symétrique de celle des animalculistes : il y a bien préformation, mais c'est la femelle qui porte les générations emboîtées dans ses œufs. Au XVIIIe siècle, cette idée eut des défenseurs de marque avec Haller, Bonnet et Spallanzani. Ce fut la théorie oviste, *que Bonnet voyait confirmée par la découverte qu'il avait faite de la parthénogenèse chez les pucerons.*

C'est vers la fin du XVIIe siècle que plusieurs auteurs conçurent la notion d'une sexualité végétale. En 1682, Grew l'envisageait et indiquait que T. Millington (1628-1704) était aussi de cet avis. En Angleterre, au début du XVIIIe siècle, R. Bradley (?-1732) soutint aussi cette opinion, de même que S. Morland (1625-1695). En France, tandis qu'elle était rejetée par J.-P. Tournefort (1656-1708), elle était approuvée avec enthousiasme par son élève S. Vaillant (1669-1722) et soutenue aussi par E.-J. Geoffroy (1672-1731). En fait, ce furent surtout les observations et les expériences réalisées en 1694 par R.J. Camerarius (1665-1721) qui établirent la nécessité d'un apport de pollen sur le stigmate pour que se forme le fruit. Linné s'empara de cette découverte, qu'il connut



C. Carré - Jacana

▲▼ *Les premiers stades du développement de l'œuf d'oursin furent un objet essentiel des travaux d'embryologie expérimentale. On voit, en haut, l'œuf se segmenter tandis que le stade gastrula est atteint en bas; dans la blastula en forme de ballon s'est manifestée l'invagination d'une sorte de doigt de gant qui forme l'intestin primitif de la larve.*



C. Carré - Jacana

par Vaillant, et s'en servit pour établir sa théorie de la sexualité. Il contribua aussi à l'étude expérimentale de la sexualité.

Au XVIIIe siècle, la théorie de l'emboîtement était généralement admise pour les végétaux, la plantule que présentait la graine semblant la confirmer. Pourtant, Morland et Geoffroy soutenaient que le pollen fournit les germes qui s'introduisent dans l'ovule. Au XIXe siècle, d'interminables discussions furent suscitées par la théorie de Schleiden, pour laquelle le tube pollinique forme l'embryon à son extrémité.

Les phénomènes précis de la fécondation ne furent compris que vers la fin du XIXe, et leurs détails sont d'ailleurs toujours à l'étude. Mais la germination du pollen de pourpier avait été observée dès 1823 par J.-B. Amici (1786-1863); ce dernier vit que le tube pollinique entre en contact avec le sac embryonnaire de l'ovule. C'est également durant le XIXe siècle que furent élucidés, laborieusement, les principaux modes de la sexualité des Cryptogames, découvertes inaugurées en 1803 par les observations de J.-P. Vaucher sur la fécondation des Algues vertes d'eau douce. Enfin, la grande découverte, par Hofmeister, de l'alternance des générations ou, mieux, des formes, permit la synthèse de l'ensemble de toutes les connaissances acquises au milieu du siècle.

Le préformationnisme, qui paraît fantastique de nos jours, ne doit pas être hâtivement ridiculisé : la formation du fœtus et la conservation des caractères héréditaires sont un problème tellement difficile que leur véritable explication ne pouvait pas être découverte à cette époque et ne l'est toujours que très partiellement. Une solution simple consistait à admettre que le fœtus ne subit qu'une augmentation de taille, une « évolution », disait-on. Bonnet n'était pas fermé aux problèmes posés par ses idées : il en vint à admettre que le premier aspect d'un fœtus pouvait bien être très différent de celui de l'adulte. Il pensait aussi que le mâle, effectivement, joue un rôle, ce que montre de toute évidence la formation d'hybrides (les mulets par exemple). Enfin, il lui fallait admettre l'existence de germes dans les parties qui permettent la régénération de celles-ci et la reproduction asexuée.

Au milieu du XVIIIe siècle, G. F. Wolff se fit l'apôtre de l'épigenèse (théorie qui admet que l'embryon se forme graduellement, par différenciation de parties non préexistantes). En 1759, il publia dans sa Theoria generationis des observations très importantes sur le développement du poulet, mais aussi, chez les plantes, sur la formation des feuilles et des pièces florales. Par la suite, en 1766, parurent, outre ses travaux sur l'organogenèse de l'intestin, ses observations, tératologiques cette fois, qui le conduisirent à admettre l'homologie des feuilles et des pièces florales, comme Goethe allait faire vingt-cinq ans plus tard. Pour Wolff, les parties de l'embryon apparaissent par organisation d'une substance fondamentale (ou protoplasme dans sa première acception), du même genre que le cambium des arbres tel qu'on l'envisageait alors, et par où se fait l'accroissement en diamètre de ces derniers. Mais pour expliquer cette organisation, il devait faire appel à un principe organisateur, une force essentielle (vis essentialis), qui semble bien être l'âme de l'embryon. Elle n'a rien d'immatériel, mais Wolff ne nous donne pas non plus son fondement matériel. Deux mille ans après Aristote, l'épigenèse posait toujours autant de problèmes !

Au XIXe siècle, tandis que la réalité de la fécondation devenait manifeste, la description du développement embryonnaire fit de grands progrès, d'abord chez les animaux, grâce à C. E. von Baer (1792-1876) qui, entre 1827 et 1837, établit la théorie des feuillets germinatifs, découvrit la chorde dorsale et montra la correspondance des stades du développement des Vertébrés inférieurs avec les premiers stades de celui des Vertébrés supérieurs. Chez les plantes supérieures, ce n'est guère qu'en 1870, avec J. Hanstein (1822-1880), que commence l'étude du développement de l'œuf, dont la formation par fécondation ne sera d'ailleurs établie qu'en 1877, par Strasburger.

La morphogenèse

C'est assez longtemps après la description du développement embryonnaire qu'on se préoccupa d'en étudier la physiologie; cette physiologie du développement est appelée actuellement morphogenèse.

C'est avec W. Roux (1850-1924) que les travaux de morphogenèse commencèrent dans leur esprit actuel; cependant, les premiers résultats de Roux, qui montraient qu'on peut obtenir des embryons partiels de grenouille par destruction d'un des deux blastomères de la première division, ou d'un à trois blastomères après la seconde, sont tout à fait identiques à ceux, bien plus détaillés, de Chabry, qui travaillait sur l'embryon d'une ascidie. Comme les blastomères ne donnent que la partie du corps qu'ils auraient donnée si l'on n'était pas intervenu, Roux en tira la conclusion que le développement se fait en mosaïque. Mais, bientôt, H. Driesch s'aperçut que les premiers blastomères d'oursin, isolés, donnaient des embryons complets : il y a régulation, et une cellule d'un jeune embryon se comporte comme un œuf entier. Ce pouvoir de régulation est la source de la formation des jumeaux et des monstres doubles. Il y a aussi une régulation des excédents, pour employer la terminologie d'E. Wolff : l'union de deux germes ne conduit alors qu'à un seul produit. Inversement, d'autres cas de développement en mosaïque seront mis en évidence, notamment chez les Annélides et les Mollusques.

En 1921, H. Spemann (1869-1941) introduisit définitivement la notion d'induction embryonnaire, en montrant que la greffe d'une lèvre dorsale de blastopore de triton dans la région latérale d'une gastrula détermine sur celle-ci la formation d'un embryon secondaire. Ce phénomène correspond au processus plus limité rencontré au niveau de la différenciation des organes et qui fait l'objet d'innombrables travaux, parmi lesquels il faut citer spécialement ceux qui se poursuivent dans le laboratoire d'E. Wolff. Au cours du développement, les parties de l'embryon agissent les unes sur les autres par l'intermédiaire de substances inductrices, ribonucléiques sans doute, qui ne sont pas sans évoquer des sortes d'hormones locales ou de médiateurs chimiques. Les corrélations entre parties se réalisent ainsi progressivement : par exemple, une évagination d'une vésicule de l'encéphale, future rétine, induit l'enfoncement d'un bouton ectodermique qui se creuse et va former le cristallin; celui-ci, à son tour, induira la différenciation en cornée de l'ectoderme, lequel s'est reconstitué en face de lui. C'est ce processus que Spemann commença à étudier dès 1901. On peut rapprocher de ce phénomène le fait que les organes sexuels de l'embryon, par les hormones qu'ils sécrètent, induisent leur propre différenciation. A cet égard, la démonstration par E. Wolff, en 1935, de la possibilité d'inverser le sexe de l'embryon de poulet sous l'action d'une hormone femelle eut un grand retentissement; on sait maintenant que l'embryon sécrète lui-même des hormones sexuelles, sous contrôle génétique bien entendu. Les travaux de morphogenèse s'orientent maintenant aux niveaux cytologique et biochimique.

La tolérance des embryons pour les greffes est à la base de l'expérimentation en embryologie. Elle s'étend aux organismes embryonnaires entiers, et on peut réaliser des chimères d'Urodèles viables dans lesquelles les moitiés antérieure et postérieure du corps appartiennent à deux espèces différentes. De beaux résultats ont été obtenus dans cette voie par C. Houillon.

L'étude de l'œuf indivis est également de grande importance. Si presque toute l'information est contenue dans les chromosomes, une partie se transmet aussi par le cytoplasme de l'œuf, dans lequel elle s'est manifestée

d'abord. Depuis longtemps, on a remarqué la stratification des éléments cytologiques, qui annonce parfois plus ou moins la localisation des parties du futur embryon. Une extension intéressante, quoique encore problématique, des travaux concernant l'induction a consisté à s'attaquer non plus à des fragments de parois cellularisées, mais à des fragments du cortex de l'œuf où elle se produira. On retrouve là l'idée d'une différenciation précédant la cellularisation. De même, dans plusieurs cas, une partie du cytoplasme de l'œuf détermine les cellules qui s'y forment à devenir des cellules sexuelles et, chez l'Ascaris, agit sur les chromosomes complexes en empêchant leur fragmentation.

L'embryologie expérimentale des végétaux est bien moins avancée que celle des animaux. Pourtant, la polarité de l'œuf fait l'objet de travaux, en particulier chez les Algues. Comme la plante supérieure ne termine son développement qu'en fleurissant, il est normal d'attribuer à l'embryologie l'étude des apex végétatifs et floraux. L'expérimentation sur ces parties remonte à la fin du siècle dernier, notamment depuis les travaux de K. Goebel (1855-1931). Récemment, on a mis en évidence des faits comparables à ceux de la régulation en embryologie animale : sectionné longitudinalement, un apex donne deux apex normaux, et, s'il s'agit d'un apex floral, il pourra se former deux fleurs. Un jeune pétale, une jeune étamine, une jeune feuille, sectionnés en long, peuvent donner deux pièces normales (G.S. Hicks, T. Sachs). L'induction existe aussi : G. Camus a montré qu'un bourgeon greffé induit la différenciation d'un faisceau de bois ; l'apex surtout induit les régions latérales sous-jacentes à former des feuilles : isolées de lui par des entailles, ces mêmes régions produisent des ébauches de bourgeons (C.W. Wardlaw).

La sénescence

A l'inverse du développement, la sénescence est un ensemble de processus qui mènent l'organisme entier à la mort. Il s'agit d'un sujet encore fort mal connu. Chez les végétaux supérieurs, la sénescence de parties anciennes va de pair avec la morphogenèse : des feuilles sont mortes avant la floraison. Mais, même chez un embryon de Vertébrés, certaines parties sont sénescentes et se nécrosent bien avant la fin du développement : c'est le cas des membranes interdigitales, qui existent même chez un embryon de poulet dont les doigts ne seront point palmés ; la métamorphose s'accompagne de phénomènes d'histolyse. Il faut examiner, d'une part, la sénescence contrôlée de parties de l'organisme et, d'autre part, la sénescence généralisée qui mène celui-ci à la mort.

L'hérédité et le micromérisme

Aristote cherchait, sans atomiser l'organisme, à expliquer le modelage de l'embryon à chaque nouvelle génération, ce qui est nécessaire si l'on est épigéniste. La chose pourra paraître plus facile si l'on est, de plus, micromériste, *c'est-à-dire si l'on décompose l'organisme en atomes vivants susceptibles d'être transmis isolément. Buffon admettait que l'organisme présente un « moule interne » déterminant non seulement le contour externe, mais également la structure et la microstructure de la masse, et que ce moule interne s'adjoint les molécules organiques que l'organisme absorbe. Celles qui sont rejetées par le moule, parce que superflues dans l'adulte, servent à former les semences. De plus, sans qu'il ait précisé ce point, Buffon a envisagé, semble-t-il, une hérédité du moule interne : ce que la génération suivante reçoit, ce n'est pas un embryon tout préparé qui n'aurait qu'à grossir, mais une sorte de trame tridimensionnelle propre à organiser les molécules organiques pour constituer un être vivant.*

Avant Buffon, Maupertuis avait admis une double semence : pour lui, chaque semence est formée de « germes d'organes » qui, doués d'affinités avec ceux des germes qui doivent donner des organes voisins dans l'organisme, s'unissent à eux et assurent le développement de celui-ci. Chaque organe fournit ses germes ; si leurs affinités sont perturbées, celles-ci aboutissent à la formation de monstres. Maupertuis explique les affinités d'abord par une attraction newtonienne, puis, plus tard, par une mémoire fort mystérieuse. Ce ne sont plus tous leurs constituants, mais seulement les germes des organes qui sont les « atomes » vitaux.

*Les théories micromériste furent nombreuses au XIX*e *siècle. En 1864, H. Spencer (1820-1903) proposa son hypothèse des unités physiologiques. En 1868, Darwin conçut aussi une théorie de l'hérédité et du développement. Pour lui, les parties de l'organisme émettaient des* gemmules *porteuses d'information héréditaire.*

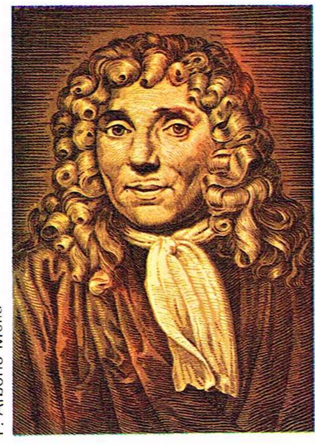
Bien d'autres conceptions furent proposées, parmi lesquelles il faut mentionner celle formulée par K. Naegeli en 1884 ; celui-ci envisageait un système plasmatique continu (idioplasme), passant d'une cellule à l'autre de l'organisme et possédant en chacune d'elles le support de l'information héréditaire tout entière. Cet idioplasme *est disposé en cordons ; il détermine les caractères plus ou moins globaux de l'organisme, dont chacun est exprimé par un plus ou moins grand nombre de cellules, et non pas la forme d'une seule cellule. L'œuf reçoit un cordon mixte, provenant pour moitié du père et pour moitié de la mère. Dans les cellules, en particulier dans l'œuf, ce sont des différences de « tensions » qui expliquent que telle ou telle partie de cet idioplasme soit ou non fonctionnelle : c'est pourquoi la cellule, qui pourrait remplir toutes les fonctions, ne se livre qu'à une fonction particulière. C'est pour la même raison que les caractères maternels et paternels se manifestent aussi plus ou moins. Enfin, les cordons de l'idioplasme sont susceptibles de modifications, dans lesquelles le milieu n'est pour rien, et qui sont responsables de la variation.*

Deux autres théories importantes sont celles proposées par H. De Vries en 1889, et A. Weismann en 1892, qui admettaient aussi l'existence d'éléments déterminant les caractères, et les situaient dans le noyau (et même pour Weismann dans les chromosomes). Ces pangènes *de De Vries ou ces* déterminants *de Weismann migrent du noyau dans le cytoplasme pour agir sur la différenciation des cellules. Mais, tandis que chez De Vries la plupart des cellules sont dépositaires de l'ensemble de l'information concernant les caractères de l'organisme, chez Weismann elles perdent, lors de la différenciation, les déterminants qu'elles n'ont pas à exprimer. Comme lors de la réduction chromatique, il y a perte de la moitié du plasma germinatif des chromosomes qui renferme les déterminants ; cette perte se fait au hasard ; les cellules sexuelles et les œufs qui en résultent sont extrêmement divers. D'où la variabilité des caractères des enfants par rapport à ceux des parents.*



M. Pedone

▲ Dans les fleurs doubles (ici des pivoines) se produisent spontanément des multiplications de pièces (pétales et étamines) que l'on commence à obtenir à volonté grâce à des techniques expérimentales de morphogenèse.



F. Arborio Mella

▲ **Gregor Mendel** *(1822-1884), à qui l'on doit les recherches sur l'hybridation, qui permirent de fonder la génétique.*

Naissance et renaissance de la génétique

On comprend mal la vogue de toutes ces théories, alors que durant trente-cinq ans demeurait méconnue la seule qui reposât sur des faits expérimentaux, celle de **G. Mendel** *(1822-1884), publiée en 1865. A cet égard, on a fait remarquer qu'au moment de sa publication, la tendance générale était d'admettre que l'ensemble des caractères d'une espèce formait un bloc définissant l' « essence » spécifique, susceptible de se mêler à une autre dans un hybride, puis de s'en séparer ensuite, toujours en bloc, dans ses descendants. C'est ce qu'avait cru montrer en 1864 C. Naudin (1815-1899). Mais, un peu plus tard, d'autres théories postulaient justement l'indépendance des caractères, et Naegeli était un correspondant de Mendel, dont le travail était dûment cité parmi ceux concernant l'hybridation par le bibliographe B. D. Jackson, dès 1881, ainsi que par W. O. Focke, qui n'en avait nullement vu l'intérêt.*

Mendel n'était certes pas le premier à avoir procédé à des hybridations artificielles de plantes; il faut citer à ce sujet J. G. Koelreuther (1733-1806) et A. Sageret (1763-1851), qui avait opposé en un tableau les caractères correspondants des parents, ceux que nous appelons alléliques; il avait noté que, dans un couple, un des caractères domine l'autre à la première génération, mais que le caractère dominé ne disparait pas pour autant, puisqu'on peut le retrouver dans les générations suivantes.

Mendel, qui avait étudié et enseigné la physique, devait être un mathématicien compétent, mais il ne faut pas chercher, comme on l'a fait parfois, à expliquer l'indifférence que rencontra son travail par l'utilisation qu'il fit de notations mathématiques, en fait extrêmement simples. C'est en étudiant des plantes différant par un, deux ou trois caractères et en comptant les types de plantes obtenus lors des quatre à six premières générations, que Mendel fut conduit à postuler prudemment l'existence, dans les hybrides, de couples d'éléments issus des parents, identiques ou différents, et, dans ce dernier cas, conditionnant les deux états d'un caractère. Ces éléments devaient demeurer associés de façon stable pendant toute la vie végétative de l'hybride, l'un seulement s'exprimant s'ils étaient différents, pour se séparer au moment de la formation des cellules sexuelles et s'associer au hasard avec les éléments correspondants du conjoint, ceci indépendamment pour les divers caractères. Bien entendu, Mendel admettait que l'œuf résulte de l'union des deux gamètes ainsi dépositaires de deux allèles, ceci à une époque où la thèse de Schleiden avait encore des partisans, et où de toute manière la nature de l'action stimulatrice du tube pollinique n'était pas comprise. Toutefois, il ne formulait pas d'hypothèse sur la nature et la localisation des éléments déterminant les caractères.

Mais Mendel n'excluait pas que des hybrides puissent conserver de façon stable un couple d'allèles qui seraient « conjugués totalement et d'une façon permanente ». Alors, écrivait-il, « l'hybride, de même que tout autre végétal fixé, resterait invariable dans sa descendance ». C'est justement ce qu'il trouva après avoir réalisé, à la suggestion de Naegeli, des hybrides de Hieracium, *et c'est également ainsi qu'il envisageait d'interpréter le polymorphisme des saules. Nous savons maintenant que ces faits s'expliquent par l'apomixie (type de reproduction où n'interviennent ni la méiose, ni la fécondation) et que Mendel s'était approché de l'interprétation juste de ce fait, quoiqu'il admît le rôle fécondateur du pollen de* Hieracium. *L'effet de la méiose est bien supprimé dans ces cas et il n'y a pas de disjonction.*

Enfin, en analysant le résultat de croisements de haricots qui différaient par la couleur des fleurs et des graines, Mendel obtint des résultats aberrants en apparence, mais qu'il interpréta judicieusement en admettant que cette coloration « est composée de deux ou de plusieurs couleurs complètement indépendantes, et dont chacune se comporte, chez la plante, comme tout autre caractère constant ». C'est ce que nous nommons maintenant la polymérie.

En 1899-1900, les résultats de Mendel furent retrouvés par De Vries (1848-1935), K. Correns (1864-1933) et E. von Tschermak (1871-1962); le premier fut amené à entreprendre de nombreuses hybridations pour vérifier sa théorie des pangènes. Par la suite, le mendélisme se répandit en Angleterre, surtout grâce à W. Bateson (1861-1926). En France, il connut de beaux débuts avec L. Cuénot, qui, en 1902, étendit au règne animal les résultats de Mendel, en étudiant la coloration du pelage des souris, et mit bientôt en évidence la notion de caractère létal chez ces mêmes animaux. Dès 1902, Cuénot parlait de déterminants chimiques des caractères, mais les temps n'étaient pas encore mûrs pour que la nature de ce que W. L. Johannsen allait appeler les gènes soit comprise. D'ailleurs, en France, la génétique, comme on appelait déjà cette nouvelle branche de la Biologie, allait souffrir d'une opposition considérable des savants les plus influents, qu'il s'agisse d'Y. Delage, de L. Blaringhem ou d'E. Rabaud; ceux-ci étaient désireux de ne pas morceler le patrimoine héréditaire (sans doute parce qu'il ne faut pas morceler trop profondément l'organisme), et de ne pas éliminer la possibilité de sa modification directe par le milieu. Au contraire, entre les deux guerres, Jean Rostand consacra de brillants exposés à la génétique.

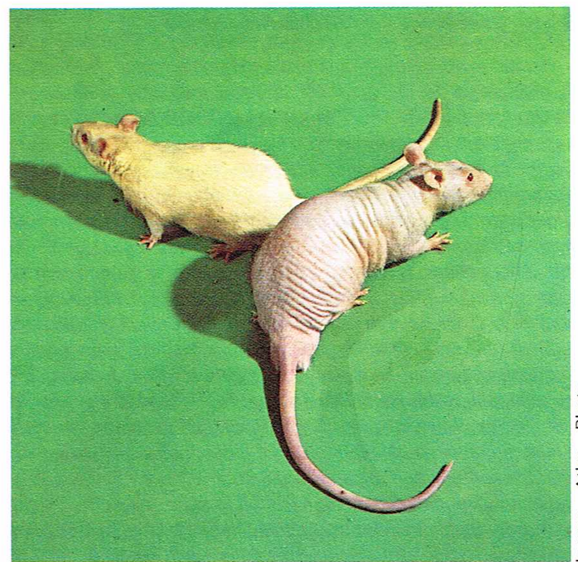
▼ *A gauche, fleurs de haricot* (**Phaseolus vulgaris**)*; au centre, fleurs de haricots montrant de légères nuances de couleur, dues à la variabilité naturelle; à droite, deux mutations spontanées chez le rat : absence de poils chez l'un, pelage albinos chez l'autre; le mendélisme fut étendu au règne animal par* **L. Cuénot** *en 1902.*



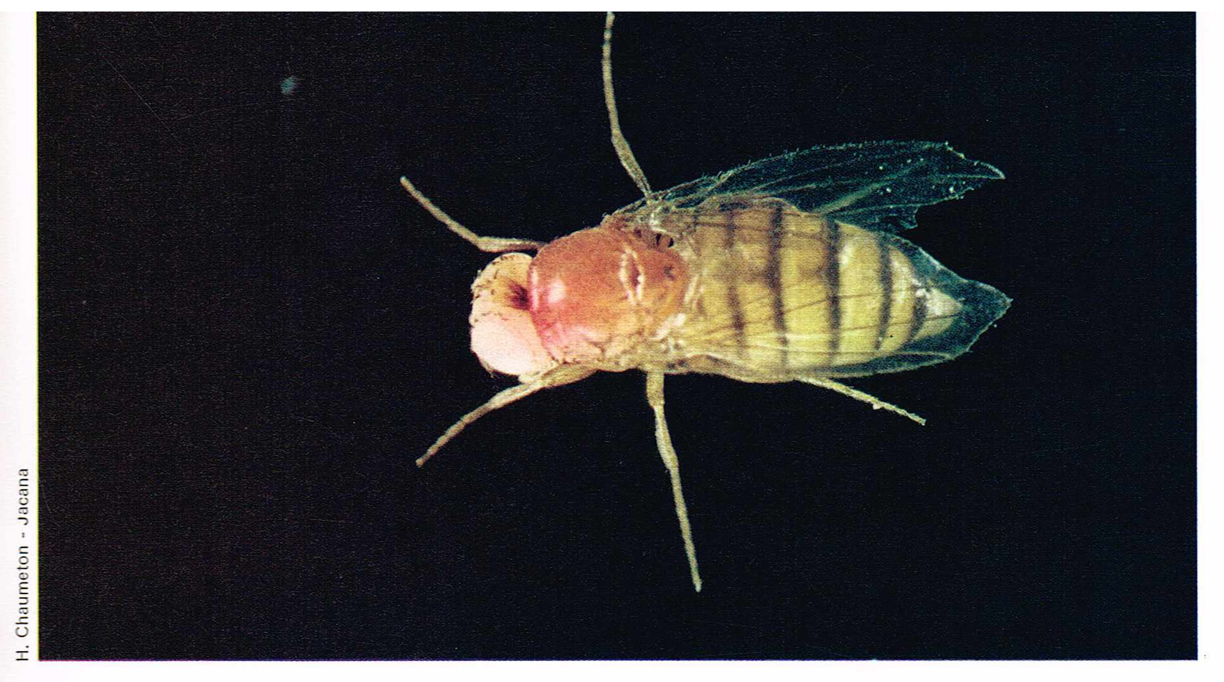
Bavestrelli - Bevilacqua - Prato



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato



Lauros - Atlas - Photo



H. Chaumeton - Jacana

◀ *C'est à propos d'une mouche du vinaigre à yeux blancs (Drosophila melanogaster) que s'ouvrirent, en 1910, les recherches de T.H. Morgan sur la théorie chromosomique de l'hérédité.*

La théorie chromosomique de l'hérédité

Weismann avait postulé la présence, dans les chromosomes, de particules déterminant les caractères. Les phénomènes de réduction chromatique mettant en cause les chromosomes ne pouvaient manquer d'être rapprochés de la disjonction des caractères mendéliens. C'est ce qui ne tarda pas à se produire après 1900, avec les recherches de Th. Boveri, W. Sutton (1877-1916) et K. Correns.

En 1901, C. E. Mc Clung (1870-1946) avait envisagé l'hypothèse que le caractère déterminant le sexe mâle soit porté sur un chromosome déterminé. C'est par l'étude de la descendance d'un mâle à yeux blancs de drosophile (la mouche du vinaigre) que s'ouvrirent, en 1910, les recherches de T. H. Morgan (1866-1949). Celui-ci établit ainsi le mode de transmission d'un caractère lié au sexe. Bientôt, avec A. H. Sturtewant et C. H. Bridges notamment, il mit en évidence la transmission en bloc des caractères portés par un même chromosome, ce qui permit d'expliquer les « anomalies » notées par Bateson dès 1905.

On apprit bientôt à établir la carte des caractères sur les chromosomes. L'absence de disjonction entre deux chromosomes sexuels expliqua d'autres anomalies et fut également constatée cytologiquement. On découvrit, avec T. S. Painter, que les rangées transversales de chromomères, qui strient les chromosomes géants des glandes salivaires de la drosophile, constituent autant de marques constantes visibles directement et qui peuvent être mises en rapport avec les cartes géniques. On s'aperçut alors que certains caractères résultent de changements morphologiques subis par les chromosomes : des segments sont perdus, échangés, inversés, etc.

Les travaux allaient être étendus aux plantes grâce à C. D. Darlington et B. Mc Clintock. Ces dernières années, W. Nagl s'est intéressé à des chromosomes végétaux géants qui sont fort comparables à ceux de la drosophile.

La génétique n'avait utilisé que des caractères « mutés » spontanément. En 1927, par irradiation aux rayons X, H. J. Muller (1890-1967) va produire des mutations expérimentales, quoique de façon aveugle. Cette possibilité de faire « muter » des organismes, étendue grâce à la découverte d'agents chimiques mutagènes, sera très précieuse pour la génétique des Bactéries, des Virus et des Champignons.

A côté de la génétique animale et végétale, il faut dire un mot de la génétique humaine, qui présente de grandes difficultés puisque l'expérimentation, au moins au niveau de l'organisme entier, y est impossible et doit être remplacée par l'observation. Ce n'est qu'en 1956 que le nombre chromosomique de l'homme, longtemps estimé à 48, fut reconnu être de 46. En 1959, la découverte par J. Lejeune et R. Turpin de l'origine génétique du mongolisme, qui tient à la présence d'un chromosome supplémentaire, souleva un grand intérêt ; de nombreuses anomalies de ce genre furent bientôt trouvées, rendant compte de divers états pathologiques congénitaux.

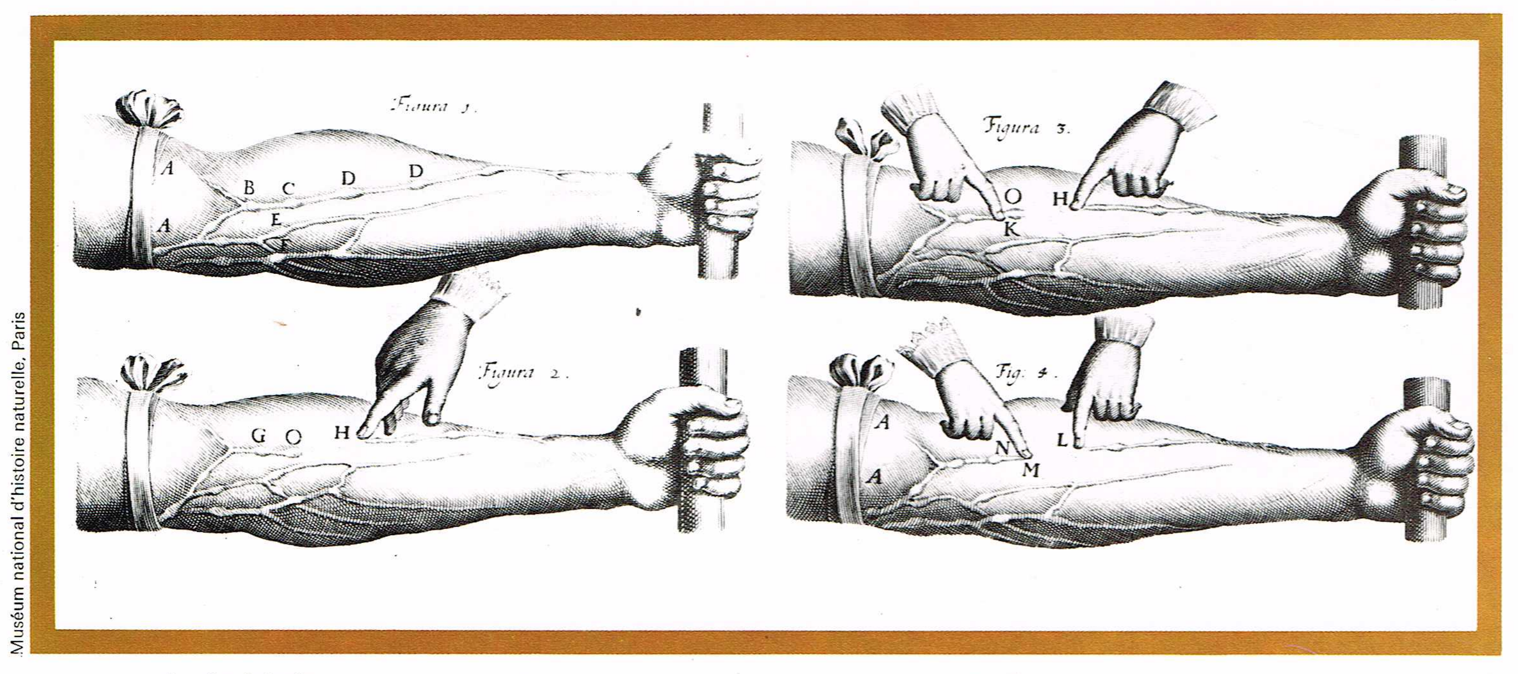
Les études génétiques furent étendues aux Bactéries à partir de 1946 lorsque J. Lederberg et E. Tatum découvrirent l'existence de leur « parasexualité », et les travaux de E. Wollman et F. Jacob eurent à ce sujet une importance essentielle. Des travaux de génétique furent aussi menés sur des Virus (bactériophages), et S. Benzer envisagea une génétique intragénique : le gène est lui-même susceptible d'être décomposé en plusieurs éléments. L'étude sur des Champignons devait mener aux mêmes notions, qui sont compréhensibles grâce à celles acquises sur la structure chimique de ce gène.

Gène et biochimie

Morgan ne se préoccupait pas de la nature du gène ; cependant, bien vite, on chercha à déterminer sa constitution et son mode de fonctionnement. Dès 1902, A. Garrod (1857-1936) avait mis en évidence l'hérédité mendélienne de l'alcaptonurie de l'homme, anomalie métabolique dans laquelle l'urine, qui contient anormalement de l'acide homogentisique, noircit au contact de l'air. Déjà, en 1909, Garrod pensait que l'absence d'une enzyme décomposant normalement cet acide était la cause de cette anomalie et que la production de cette enzyme était normalement un caractère héréditaire. Comme les enzymes se révélaient être responsables de toutes les réactions métaboliques, si l'on pouvait lier le gène à l'enzyme, on pouvait aussi entrevoir son mode d'action sur tout le développement et le fonctionnement de l'organisme. Si diverses théories eurent cours suivant lesquelles le gène était une enzyme ou une protéine, il faut signaler que dès la fin du siècle dernier on avait envisagé le rôle héréditaire de la « nucléine » (c'est-à-dire des acides nucléiques), découverte en 1871 par J.F. Miescher (1844-1895).

Cependant, ce n'est qu'à partir de 1950 environ, avec les découvertes d'E. Chargaff, que les connaissances chimiques sur ces acides permirent de comprendre comment leurs molécules sont suffisamment variables pour représenter un très grand nombre de caractères. Dès 1944, A. T. Avery (1895-1949) avait montré que l'acide désoxyribonucléique est susceptible de transmettre un caractère chimique d'une souche bactérienne à une autre : c'est la transformation. *En 1947, A. Boivin (1895-1949) en déduisait que l'élément essentiel des gènes devait être cet acide, ce qu'A. D. Hershey et M. Chase vérifiaient en 1952, dans le cas des bactériophages.*

En 1957, J. Benoît tenta d'étendre la notion de transformation en injectant de l'ADN à des animaux supérieurs (canards) ; d'autres chercheurs effectuèrent des expériences analogues sur des cellules humaines ou de



▲ **La physiologie expérimentale apparut au XVIIe siècle ; la découverte de la circulation du sang, par Harvey, en marque le début.**

▼ **Dans cette expérience de S. Hales (1677-1761), l'arbre du milieu, greffé aux deux autres qui, seuls, sont enracinés, en reçoit la sève qui lui permet de survivre.**

drosophile, et, en 1969, D. Hess obtint des résultats en ce qui concerne la coloration des fleurs de Petunia.

Dans l'intervalle, la notion introduite par Garrod d'un rapport entre le gène et une enzyme allait se préciser, en particulier grâce à des travaux de M. Wheldale (1880-1932) sur le contrôle génétique de la production des enzymes qui permettent la synthèse des pigments floraux, puis de J. B. S. Haldane (1892-1964) sur le même sujet. Le problème était alors de rendre compte de la manière dont l'ADN peut diriger la synthèse d'une protéine enzymatique. C'est G. Gamow qui eut, en 1954, l'idée de faire déterminer la place d'un acide aminé par la situation d'un trio de bases de la chaîne d'ADN. En 1958, F. H. C. Crick, tenant compte des résultats cytophysiologiques acquis au préalable et qui montraient l'importance de l'acide ribonucléique dans la synthèse protéique, proposa la voie maintenant si connue pour celle-ci. L'existence du moule ribonucléique, lui-même formé sur le moule de l'ADN, et sur lequel il postulait la synthèse des protéines, fut démontrée en 1961 par F. Jacob et J. Monod, tandis qu'à partir de cette même époque, la synthèse de produits comparables à l'ADN, jointe aux méthodes d'extraction des enzymes cellulaires, allait permettre à M. Nirenberg de synthétiser in vitro *des polypeptides en utilisant l'information de produits désoxyribonucléiques et de déchiffrer directement ce qu'on appelait désormais le* code génétique.

De nombreuses découvertes ont mené à ce qu'on peut appeler la théorie biochimique ou moléculaire de l'hérédité. Les gènes ne sont que des segments de la molécule d'ADN, et il n'est pas surprenant qu'on ait parlé d'unité intragénique : un gène complexe peut comprendre plusieurs segments successifs et la délimitation du gène peut être un peu arbitraire. Des processus de déclenchement de la synthèse d'un segment donné d'ADN sont actuellement étudiés.

La génétique biochimique doit beaucoup à des travailleurs français, mais, au début, elle ne connut en France guère plus de succès que la génétique tout court. L'indifférence remplaça seulement l'hostilité, jusqu'à ce que l'attribution d'un prix Nobel provoquât pour ces travaux un grand enthousiasme.

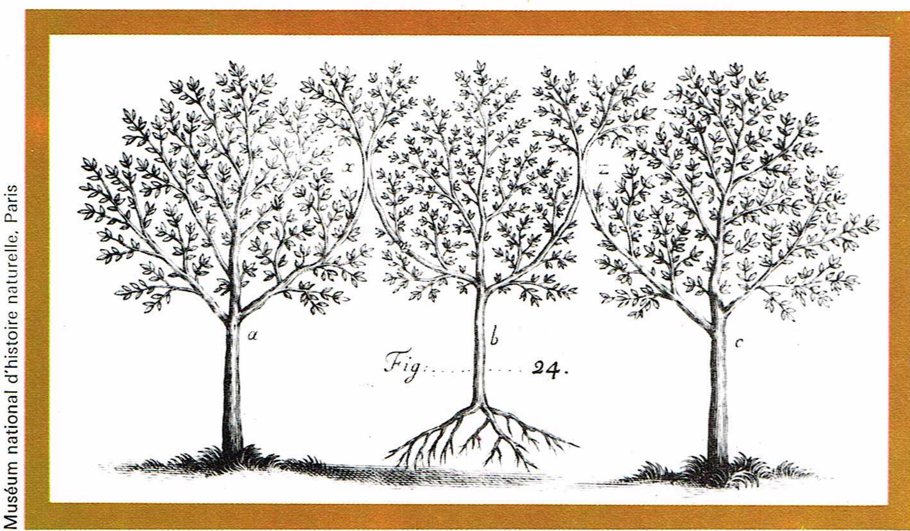
En somme, l'idée de préformation se trouve vérifiée : un code très précis est déposé dans une molécule volumineuse. La vis essentialis *de G. F. Wolff est due à la mise en œuvre de ce code, qui consiste à produire les catalyseurs enzymatiques qui constitueront progressivement ou entretiendront l'organisme, en engendrant des organites et des organes, lesquels sont eux-mêmes producteurs de substances assurant leurs rapports coordonnés avec le reste. C'est dans cette mesure qu'il y a épigenèse. On voit à quel point tout cela fournit une éclatante confirmation de la conception aristotélicienne !*

LA PHYSIOLOGIE

La tendance à décrire par des raisonnements mécanistes le fonctionnement de l'organisme se manifeste dès les origines de la pensée grecque et les auteurs qui, comme Aristote, affirmaient la nécessité d'une âme du vivant étaient souvent en même temps mécanistes. Aristote n'aurait point rejeté l'idée d'animal-machine et même l'homme-machine de La Mettrie (1709-1751) ne l'aurait sans doute pas surpris.

Mais les explications mécanistes que les Anciens donnaient étaient évidemment insuffisantes, parce qu'elles n'étaient pas conçues suffisamment comme des hypothèses à vérifier. On ne cherchait pas assez à confronter les hypothèses à la nature par des observations comparatives et des expériences. R. Joly s'est appliqué à démonter cette façon de penser dans le cas des écrits d'Hippocrate et de ceux d'Aristote.

Pourtant, il ne faut pas exagérer cette faiblesse ; ainsi, Aristote discutait des observations propres à mettre les hypothèses à l'épreuve, et une expérimentation souvent



fort judicieuse se trouve chez Galien. Inversement ne voit-on pas de nos jours l'hypothèse néo-darwinienne, qui peut bien n'être qu'une grossière analogie, considérée par beaucoup comme le dogme sur lequel reposerait la biologie tout entière ?

Quoi qu'il en soit, c'est au XVIIe siècle qu'apparut une physiologie véritablement expérimentale, dont la publication, en 1628, de la découverte de la circulation du sang par Harvey marque le début. Harvey, qui était par ailleurs un grand admirateur d'Aristote et de Galien, rassemblant diverses observations faites auparavant et saisissant l'impossibilité pour le sang d'être produit à la vitesse à laquelle il doit sortir du cœur, conçut qu'il devait circuler dans l'organisme. Il refit l'expérience très simple de Fabrice d'Acquapendente (1537-1619), mais en l'interprétant cette fois correctement : la pression sur une veine du bras entraîne l'accumulation du sang en amont de la zone en question et distend les régions de la veine porteuses de valvules.

Le travail de Harvey était aussi un essai de physiologie comparée car son auteur s'intéressait aux Poissons, aux Insectes et aux Vers. En cherchant à saisir la mécanique des mouvements du sang, il calcula, en particulier, le débit du sang dans le cœur : 540 livres devaient passer dans le ventricule gauche en une heure. Une telle précision dans la mesure est restée un trait marquant de la biologie anglo-saxonne.

En France, la physiologie générale fut représentée à cette époque par E. Mariotte (1620-1684), plus connu comme physicien. Ce mécaniste convaincu, du moins en ce qui concerne les animaux et les plantes, saisit la nécessité d'une pression importante pour maintenir la sève dans toute la hauteur d'une plante et considéra que cette pression était responsable de la croissance de la tige ainsi que du maintien en extension de ses organes.

Cette force responsable de la montée de la sève allait être un des objets d'étude de S. Hales (1677-1761) ; celui-ci montra le rôle de la transpiration et de la poussée radiculaire dans cette ascension, celui de la capillarité, envisagé par Malpighi, étant très faible. Par ailleurs, une grande partie des recherches de Hales concernait l'hémodynamique : il mesura les pressions artérielle et veineuse, évalua la résistance des capillaires à la progression du sang ainsi que la vitesse du sang dans les poumons, et montra que les muscles ne peuvent être, comme on le pensait auparavant, contractés par l'effet de la pression du sang artériel. A tous ces points de vue, il continua et enrichit les travaux de Harvey. Entreprenant des observations sur la respiration, il mit en évidence des faits intéressants, qu'il ne put toutefois pas comprendre ; s'il vit bien que l'animal utilise de l'air pour sa respiration, il se refusa à admettre qu'il ne fixait qu'un seul des composants de celui-ci, comme l'avait pourtant déjà soutenu, en 1668-74, J. Mayow (1640-1679), qui s'approcha beaucoup de la découverte de l'oxygène. Cependant Hales, constatant que la combustion et la respiration émettaient des vapeurs nocives, chercha à purifier cet air en le faisant traverser des filtres imbibés de « sel de tartre » calciné (potasse) ; il put ainsi respirer durant 8 minutes et demie, en circuit fermé, l'air d'un récipient, sans être incommodé ; il avait évidemment fixé, sans le savoir, le gaz carbonique expiré.

Au cours du XVIIIe siècle, la physiologie s'enrichit des études de L. Spallanzani et d'A.-F. de Réaumur (1683-1757) sur la digestion. La « coction » des aliments, déjà envisagée par Aristote, se révéla due à l'action de produits de l'estomac, ce que J. B. Van Helmont (1577-1644) avait peut-être deviné en postulant l'existence de ferments. C'est avec Haller que la notion d'irritabilité propre des fibres musculaires se trouva mise en évidence et dissociée de l'aptitude du muscle à répondre à un stimulus nerveux. A vrai dire, Galien avait formulé l'idée de cette dualité. Le système nerveux, montra Haller par des expériences d'excitations et de lésions, est responsable de la sensibilité, et, en particulier, l'écorce cérébrale a un grand rôle dans le processus.

Au milieu du siècle, H.-L. Duhamel du Monceau (1700-1782), qui peut être considéré comme l'un des continuateurs de Hales, s'intéressa particulièrement aux arbres, dont il étudia l'accroissement en diamètre et le mouvement de la sève. Il s'occupa aussi de la croissance des os.

A la fin du siècle, avec le renouveau de la chimie, auquel sont liés en particulier les noms d'A.-L. de Lavoisier (1743-1794) et de J. B. Priestley (1733-1804), la physiologie enregistra de grands progrès dans la connaissance de la respiration. En collaboration avec A. Séguin (1767-1835), Lavoisier mit en évidence les échanges de gaz carbonique et d'oxygène et, s'il admit que la « combustion » correspondante prend place dans les poumons, il n'exclut pas qu'elle pût avoir lieu également dans les tissus, ce qui sera démontré au siècle suivant.

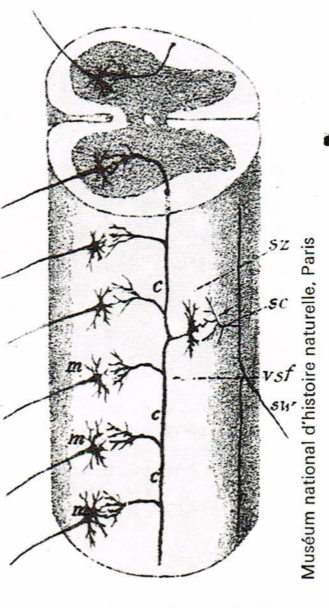
En ce qui concerne les végétaux, J. Ingenhousz (1730-1799) avait révélé, en 1779, que les plantes purifient l'air ordinaire au soleil et l'altèrent pendant la nuit. Il montra la fixation du gaz carbonique à la lumière et son émission à l'obscurité. La photosynthèse ainsi découverte devait être étudiée par J. Senebier (1742-1809) et assise sur des bases quantitatives par N.-T. de Saussure (1767-1845), qui nia malheureusement le rôle de la chlorophylle dans le phénomène.

Au XIXe siècle, toutes ces questions avancèrent de front à un rythme accéléré. Avec, en particulier, K. Ludwig (1815-1895), E. F. W. Pflüger (1829-1910) et P. Bert (1833-1886), le transport des gaz par le sang et la localisation tissulaire de la respiration proprement dite allaient être mis en évidence. Chez les végétaux, les rapports entre la respiration et la photosynthèse, les voies des échanges gazeux et l'augmentation de l'intensité respiratoire sous l'effet de la lumière firent l'objet des travaux de J. von Sachs (1832-1897), G. Bonnier (1853-1922) et L. Mangin (1852-1937). Bientôt, on découvrit la localisation cellulaire de la chlorophylle dans les plastes et on commença à étudier la sensibilité spectrale de celle-ci. Puis, au début du XXe siècle, F. F. Blackman effectua des travaux sur les modalités d'action de la lumière. Cependant, la connaissance des deux processus de la fixation du gaz carbonique ne sera acquise que pendant la seconde moitié du siècle.

Dans le domaine de la physiologie des nerfs et des muscles, ce fut A. Volta (1745-1826) qui établit l'excitabilité électrique de ces organes ; vers 1850, les manifestations électriques de leur activité furent mises en évidence par E. Du Bois-Reymond (1818-1896), découverte qui sera à l'origine de l'électrophysiologie. Le mystérieux fluide, ou influx nerveux, un des aspects du pneuma pour les Anciens, se manifeste au moins par des phénomènes électriques qui seront rapportés à des mouvements ioniques.

Galien distinguait déjà des nerfs moteurs, sensitifs et mixtes ; mais l'étude physiologique des deux racines des nerfs rachidiens commença seulement avec C. Bell (1774-1842) et F. Magendie (1783-1855). Bientôt, la notion d'arc réflexe allait pouvoir être conçue, en particulier par M. Hall (1790-1857), en 1837 ; toutefois, son support histologique ne put être établi solidement qu'à la fin du siècle, lorsque, vers 1889, A. Kölliker (1817-1905) montra que les fibres nerveuses ne sont que des prolongements des cellules de la substance grise ou des ganglions.

Galien avait aussi supposé que les lésions cérébrales ont un effet paralysant et anesthésiant. Cette idée allait se trouver confirmée scientifiquement par J. Legallois (1770-1814), qui trouva, en 1811, que la lésion d'une zone bulbaire entraîne un arrêt respiratoire ; il avait ainsi localisé une fonction nerveuse de commande. P. J. Flourens (1794-1867), pour sa part, s'attacha aux fonctions des parties de l'encéphale, en particulier du cervelet. En



▲ A. Kölliker *(1817-1905)* **montra, vers 1889, que les fibres nerveuses ne sont que des prolongements des cellules de la substance grise ou des ganglions. Il schématisait ainsi des neurones de la moelle dans son grand** Handbuch der Gewebelehre des Menschen.



Photo Lauros - Giraudon

▲ La leçon de Claude Bernard, peinture de Léon Lhermitte (1889), à la Sorbonne.

1870, G. Fritsch (1838-1891) et E. Hitzig (1828-1907) montrèrent que l'excitation de zones déterminées de l'écorce cérébrale entraîne la contraction de muscles précis. Enfin, les observations de P. Broca (1824-1880), remontant à 1861 et montrant le rapport entre la perte du langage et la lésion asphyxique ou hémorragique d'une région du cortex cérébral gauche, allaient déjà dans le sens de la détermination de localisations cérébrales; celles-ci ont été et sont encore un important sujet de travaux physiologiques.

C'est également au cours du siècle dernier que le rôle centralisateur et coordonnateur du système nerveux apparut de plus en plus, et les corrélations à l'intérieur même de ses diverses parties, impliquant des inhibitions et des excitations, allaient former un sujet essentiel au début du XXe siècle, en particulier dans les études de C. S. Sherrington (1857-1952). En outre, le système nerveux allait se trouver également impliqué dans le grand ensemble des fonctions endocriniennes.

Par ailleurs, O. Löwi (1873-1961) établit que le passage de l'influx nerveux d'un neurone à l'autre, et du neurone au muscle, met en cause des substances chimiques (adrénaline et acétylcholine) qui ne sont pas des hormones, mais de simples médiateurs, puisqu'elles ne se répandent pas dans l'organisme à partir du point de leur sécrétion (leur action est localisée). Il est remarquable que l'acétylcholine se soit aussi révélée être un médiateur chimique chez les plantes.

Mais le XIXe siècle physiologique fut probablement dominé par la figure de Claude Bernard, dont on a pu dire qu'il était la physiologie même. A côté de travaux, tous essentiels, sur la digestion, mettant en évidence le rôle du suc pancréatique, sur le rôle vaso-moteur du système nerveux, sur l'exploration de la jonction neuro-musculaire grâce au curare, sur le transport des gaz par le sang, etc., Claude Bernard est surtout connu par sa découverte de la fonction glycogénique du foie dont l'étude lui permit, de 1848 à 1857, d'établir la notion de sécrétion interne : *le foie sécrète dans le sang du sucre (glucose) obtenu par destruction du glycogène qu'il a préalablement produit et mis en réserve à partir des aliments absorbés par l'intestin et apportés par le sang; la production du glucose se maintient dans l'organe isolé.*

La notion de sécrétion interne allait se trouver étendue grâce à celle d'hormone. A cette même époque, en effet, T. Addison (1793-1860) décrivait la maladie qui porte son nom et que C. E. Brown-Sequard (1817-1894) reproduisit expérimentalement, en 1856, par l'ablation des capsules surrénales. La même année, M. Schiff (1823-1896) montra l'effet fatal de l'excision de la thyroïde. Dès 1896, E. Baumann isolait de celle-ci un produit iodé (l'« iodothurine »). La mise en évidence des autres glandes endocrines, en particulier de l'hypophyse, et de l'activité endocrine d'organes dont d'autres fonctions étaient déjà connues (pancréas, intestin, rein, glandes génitales) s'est poursuivie jusqu'à nos jours. Ainsi était établi un aspect fondamental, s'ajoutant au rôle du système nerveux, des régulations qui maintiennent l'organisme en état stable (homéostasie).

Toutes ces activités endocrines avaient été révélées chez les Vertébrés; plus récemment, depuis les années 1920, une endocrinologie des Invertébrés s'est brillamment développée, d'abord chez les Insectes, puis chez les Crustacés, les Annélides, les Mollusques, etc., notamment grâce à J.-J. Bounhiol, V. B. Wigglesworth, A. Buternandt, M. Charniaux-Cotton, P. Joly, M. Durchon et beaucoup d'autres chercheurs. Des organes différents sont ici en cause, mais on observe de grandes analogies fonctionnelles avec les Vertébrés. Par ailleurs, la notion d'hormone peut être étendue aux interactions entre organismes entiers. Ainsi, c'est par une phéromone *complexe que la reine d'abeille rend stérile sa progéniture ouvrière et l'empêche de construire des cellules royales (J. Pain, 1954), et on peut considérer comme des hormones les substances attractrices ou répulsives émises par les Insectes, et dont l'effet était connu depuis longtemps : ce sont, en somme, des hormones gazeuses.*

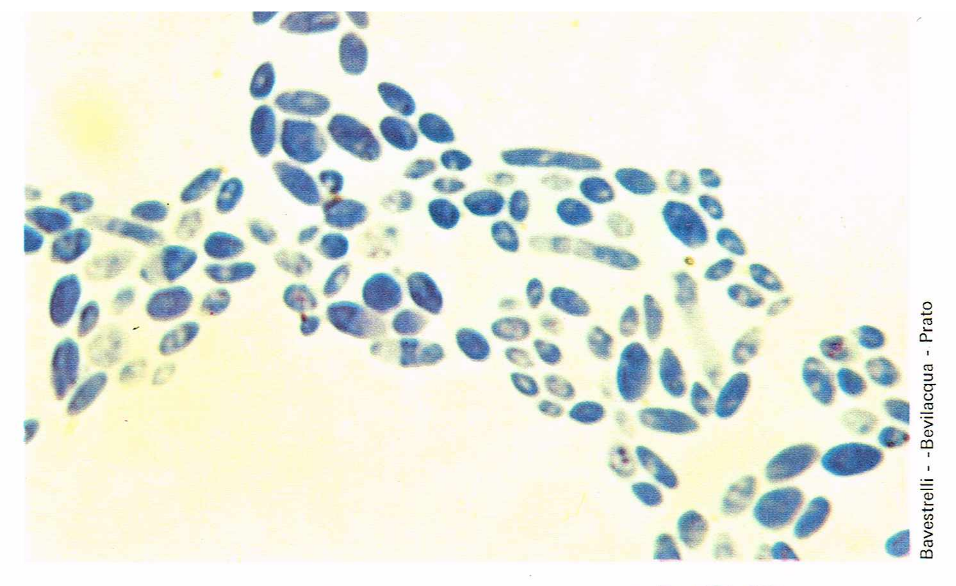
Pendant ce temps, la physiologie végétale s'était développée dans la lignée des travaux déjà cités, par exemple en ce qui concerne l'étude de la croissance et des mouvements des organes ou de la migration des substances dans la plante (ce dernier domaine de recherche bénéficie beaucoup depuis une vingtaine d'années de l'utilisation des isotopes radioactifs).

Mais on devait aussi voir naître une endocrinologie végétale. C'est probablement à tort qu'on parle parfois d'absence de milieu intérieur chez les plantes. La notion de milieu intérieur n'implique pas nécessairement la présence de sang ou de lymphe. Lorsque des substances excitatrices ou inhibitrices de diverses fonctions peuvent circuler de cellule à cellule ou entre les cellules, l'ensemble est bien plongé dans un milieu intérieur. Au début du siècle, P. Boysen-Jensen et N. Cholodny devaient révéler l'existence d'une substance, l'auxine, conditionnant notamment la croissance des végétaux (ce te auxine fut extraite en 1926 par F. W. Went). Plus récemment, on découvrit d'autres hormones, les kinétines et les gibbérellines, les secondes jouant sans doute un rôle dans la floraison. L'éthylène, produit par de nombreux organes végétaux, est maintenant considéré comme une hormone gazeuse impliquée avec l'auxine dans des interactions complexes. Des substances à action humorale sont en cours d'étude chez les Cryptogames; à côté de l'auxine, on y trouve des hormones contrôlant la gamétogenèse et la fécondation, qui rappellent en

▼ En 1860-1861, Louis Pasteur (peint par Edelfelt — Musée Pasteur, Paris) effectua un ensemble d'expériences à partir desquelles il fut admis que les micro-organismes ne peuvent provenir que de germes. Il est pratiquement le fondateur de la microbiologie.



C. Ciccione



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

▲ ***En 1836 déjà, la levure de bière*** **(Saccharomyces cerevisiae)** ***fut considérée comme un végétal par*** **C. Cagniard de Latour.**

somme les phéromones; il est d'ailleurs probable que des substances de ce genre seront reconnues chez les plantes à fleur.

Les végétaux ont joué une part importante dans la création de la photobiologie. *A côté de la chlorophylle, d'autres pigments responsables de réponses physiologiques à des lumières de diverses longueurs d'onde ont été découverts. Le plus célèbre est maintenant le phytochrome, connu depuis L. M. Flint, E. D. Mc Alister, H. A. Borthwick et H. S. Hendrick. Ce pigment est sensible aux radiations rouges et est impliqué dans de multiples phénomènes, à commencer par la germination des graines et l'activité de diverses enzymes. Son action semble mettre en cause la production d'acétylcholine, au moins dans le cas des mouvements d'ions (M. J. Jaffé). Par ailleurs, le temps d'exposition quotidien à la lumière, pendant un nombre souvent réduit de jours, indépendamment de ses conséquences trophiques, fut reconnu, en 1902, par J. Tournois puis, en 1920, par W. W. Garner et H. A. Allard, comme d'importance décisive pour la floraison de beaucoup de plantes, et ce phénomène du photopériodisme, qui met apparemment en cause une hormone inconnue, est actuellement l'objet de nombreux travaux. Les animaux sont également sensibles à la lumière, les rythmes d'éclairement étant importants, notamment pour régler la vie active et ralentie de certaines larves d'Insectes.*

Enfin, les activités rythmiques des animaux et des végétaux, connues depuis toujours et déjà étudiées au début du siècle dernier par A.-P. de Candolle, retiennent l'attention des chercheurs, mais les travaux actuels semblent encore assez loin d'en fournir l'explication.

LA MICROBIOLOGIE

L'existence de la contagion était reconnue dès l'Antiquité, et on eut recours, pour l'expliquer, à des supports matériels appelés « miasmes ». L'intervention de germes animés fut même postulée, peut-être par G. Frascator (v. 1478-1553) et en tout cas par B. Marten en 1720, mais sans que ces vues soient démontrées et aient une influence quelconque.

A *la fin du XVII*e *siècle, Leeuwenhoek reconnut des animalcules et même des Bactéries. Ces animalcules furent un objet de curiosité et de discussions scientifiques durant tout le siècle suivant. Les Bactéries, très difficiles à voir avec les instruments de l'époque, sauf avec ceux de Leeuwenhoek, furent pourtant laissées de côté. Ford s'est récemment demandé si Leeuwenhoek ne se servait pas en fait de microscopes composés.*

*Le problème de la génération spontanée des animalcules agita l'opinion. L. Joblot (1645-1723), en 1718, et surtout L. Spallanzani, en 1765 et en 1776, s'élevèrent contre cette croyance très répandue, quoique réfutée par certains penseurs depuis toujours. Tous deux conclurent que des germes doivent être apportés dans une infusion pour qu'elle se charge d'animalcules. Bouillie suffisamment longtemps et ne recevant que de l'air stérilisé, elle demeurait stérile. Des expériences conduisant au même résultat furent menées au début du XIX*e *siècle par F. Schulze (1815-1873) et T. Schwann, sans toutefois entraîner l'adhésion générale. D'autres travaux, en effet, étaient moins affirmatifs, et le phénomène, remis à l'ordre du jour en 1858 par F.-A. Pouchet (1800-1872), conduisit L. Pasteur (1822-1895) à effectuer, en 1860-61, un ensemble d'expériences à partir desquelles il fut admis que les micro-organismes ne peuvent provenir que de germes. Pourtant, en cherchant à répondre aux objections persistantes de F.-C. Bastian (1837-1915), les pastoriens découvrirent que des micro-organismes ou leurs spores résistent à des températures élevées, et mirent alors au point l'autoclave. Tout ceci révéla que, comme le reconnaissait Duclaux, bien que leur conclusion fût juste, les expériences de Pasteur n'étaient point absolument irréprochables.*

Le second volet de l'histoire de la microbiologie est constitué par l'étude des fermentations. La levure de bière fut considérée comme un végétal en 1836 par C. Cagniard de Latour (1777-1859); en 1837, Schwann arriva à la même conclusion, en soulignant qu'elle est un Champignon et qu'elle est la cause de la fermentation alcoolique. Mais le désir d'expliquer trop hâtivement les faits par des considérations purement chimiques conduisit les chimistes J. Berzelius (1779-1848), F. Wöhler et surtout J. von Liebig (1803-1873) à s'opposer à cette découverte. Pour ce dernier, la fermentation ne pouvait être qu'une instabilité communiquée par un ferment purement chimique à la substance qui se décompose. En conséquence, la levure était un produit inerte en proie à une décomposition, qui entraînait celle du sucre tandis que cette levure était reproduite par des corps organiques mis en fermentation.

Lorsque Pasteur montra que de nombreuses fermentations sont causées par des micro-organismes, la levure apparut bien comme un ferment vivant; pourtant, E. Mitscherlich (1794-1863), en 1843, et M. Berthelot (1827-1907), en 1860, montrèrent qu'elle sécrète un ferment inerte soluble (susceptible, comme on le découvrit plus tard, de cliver le saccharose en glucose et fructose). On pouvait alors se demander si un autre ferment chimique ne causait pas aussi la fermentation. Certains le soutinrent sans pouvoir le prouver, et Pasteur l'envisagea mais n'obtint pas de résultats dans cette voie; c'est pourquoi il s'en tint à l'idée d'un ferment vivant. Étant donné les résultats expérimentaux de l'époque, il avait raison. Il était réservé à E. Büchner (1860-1917) d'extraire, en 1897, de la levure, une « zymase » propre à réaliser la fermentation alcoolique en l'absence de levure vivante; les études biochimiques deva ent en révéler, par la suite, la complexité enzymatique.

Le troisième volet de l'histoire de la microbiologie concerne la reconnaissance du pouvoir pathogène des micro-organismes. C'est en 1836-37 qu'A. Bassi (1773-1856) montra expérimentalement qu'une maladie du ver à soie, la muscardine, était causée par un Champignon, et qu'il révéla comment le détruire. Cette découverte le conduisit à des hypothèses sur le rôle de parasites vivants dans de nombreuses maladies contagieuses et à proposer, dans tous ces cas, la stérilisation soigneuse par des antiseptiques. Des pratiques de ce genre avaient cours, il est vrai, depuis longtemps, mais elles ne se répandirent qu'avec J. Lister (1827-1891) et Pasteur.

En 1837, A. Donné (1801-1878) observa deux Spirochètes, le tréponème de la syphilis, ainsi que le Trichomonas vaginalis. *Dans le cas du tréponème, il se demanda s'il tenait là la cause de la maladie, mais ne put conclure. En 1840, F. O. Henlé (1809-1885) exposa une théorie cohérente de l'infection en se fondant sur les observations de Schwann, Cagniard de Latour et Bassi. Il envisagea l'existence de germes vivants responsables des maladies contagieuses et posa théoriquement les méthodes propres à la démonstration de cette hypothèse.*



A. Rizzi

▲ **Quelques exemples de cultures microbiennes en boîtes de Pétri.**

Grâce à Pasteur, C. J. Davaine (1812-1882), R. Koch (1843-1910) et bien d'autres, cette théorie devait devenir une réalité et la bactériologie s'établir comme science indépendante, non sans de nombreuses discussions sur la fixité des espèces bactériennes et sur la distinction entre les Bactéries d'une part et les Champignons et Protozoaires de l'autre, l'ensemble de l'étude des micro-organismes gardant une certaine unité, surtout pour des raisons techniques, sous le nom de microbiologie. A côté de la bactériologie médicale, le monde des Bactéries du sol, celui des Bactéries marines et l'ensemble des Bactéries pathogènes des plantes allaient constituer l'objet de branches très importantes de la microbiologie.

La technique des cultures pures et des cultures sur milieu solide (ces dernières dues à Koch) présentait un intérêt très général. Des cellules et organes animaux et végétaux pourraient aussi être cultivés de cette manière. Grâce à cette facilité de culture et à leur organisation simple d'Eucaryotes, les Bactéries se sont, dans la période récente, révélées un instrument expérimental magnifique pour la Biologie générale, quoiqu'on puisse estimer que l'intérêt se concentre un peu trop exclusivement sur elles, à certains points de vue.

L'antibiose, c'est-à-dire l'émission par un être de substances toxiques qui, répandues dans le milieu, empêchent le développement d'autres êtres, allait être découverte à propos de l'inhibition de cultures bactériennes. Outre des précurseurs comme Davaine, les noms d'A. Flemming (1881-1955) et de S. A. Waksmann (1888-1973) sont à signaler à ce sujet. Les antibiotiques sécrétés par des Champignons et des Bactéries allaient, à côté de leur immense intérêt thérapeutique, se révéler des instruments de dissection biochimique du métabolisme en empêchant sélectivement certaines de ses réactions.

S'inspirant peut-être de la vieille pratique de la prévention de la variole par l'inoculation du contenu de pustules d'une forme bénigne, ou mieux, de l'utilisation du contenu de vésicules provenant de bovins ayant une maladie voisine (cow-pox), Pasteur fut conduit à la découverte des vaccins au sens large, et montra comment atténuer la virulence de certains germes pathogènes. L'intérêt d'une pareille découverte était évidemment colossal. Les bases de l'immunité acquise ne furent toutefois pas comprises par lui. De longues recherches eurent lieu qui conduisirent H. Büchner (1850-1902) à la notion de substances (alexines) produites par l'animal récepteur, plus précisément par ses leucocytes. P. Ehrlich (1854-1915) effectua de nombreux travaux sur l'union des antigènes et des anticorps, qu'il considéra d'abord comme un phénomène chimique, tandis que K. Landsteiner (1868-1943) et J. Bordet (1870-1961) montrèrent qu'il s'agissait plutôt d'une sorte d'adsorption. Le premier s'illustra ensuite par la découverte des principaux groupes sanguins, tandis que le second découvrit notamment le complément et commença la mise au point des réactions de fixation de celui-ci, qui devaient ensuite prendre une grande importance diagnostique. Son collaborateur Gengou s'aperçut qu'à côté de cellules et de toxines, le lait aussi déterminait la formation d'anticorps spécifiques. Cette particularité fut alors reconnue aux substances à grosses molécules et à celles qu'on peut grossir par l'adjonction d'une autre (albumine).

Puisque les anticorps étaient reconnus comme des protéines, la séparation et l'étude biochimique de ceux-ci allaient devenir l'affaire de l'immunologie moléculaire, qui est actuellement l'une des branches les plus actives de la Biologie biochimique. A cet égard, il faut citer les noms de R. R. Porter et G. M. Edelman. Par ailleurs, la physiologie des organes producteurs ou modificateurs de cellules immunologiquement compétentes, en particulier du thymus, qui sécrète une sorte d'hormone particulière à rôle immunitaire, s'est trouvée renouvelée dans la période récente. En physiologie comparée, une immunologie des Arthropodes, des Vers, etc., commence à se développer. En outre, à côté de leur intérêt thérapeutique, les réactions immunologiques sont précieuses en Biologie pour la caractérisation et la localisation de substances contre lesquelles un anticorps a pu être préparé.

Enfin, chez les plantes, la présence des anticorps avait été envisagée il y a une cinquantaine d'années, mais elle ne semble pas avoir été confirmée. Du moins, on sait que, en réponse à l'infection, les plantes sécrètent des substances (phytoalexines) qui sont phénoliques et non pas protéiques.

De la microbiologie devait se détacher la virologie. Son origine remonte à 1892-1897, période au cours de laquelle on constata la possibilité, pour les agents de la mosaïque du tabac et de la fièvre aphteuse des bovins, de passer à travers les filtres de porcelaine. L'étude de la virologie ne peut être entamée ici, mais quelques exemples déjà cités ont montré son intérêt pour la Biologie générale.

LA BIOGENÈSE

Si l'idée de la génération spontanée a été rejetée, il n'est guère de biologistes qui se refusent à envisager une origine naturelle de la vie dans le passé. Les données

▶ **L'origine de la virologie remonte à 1892-1897, période au cours de laquelle on constata la possibilité pour l'agent de la mosaïque du tabac, dont on voit les effets ici, de passer à travers les filtres de porcelaine.**



Marka

d'observation sont fort peu claires, qu'il s'agisse de l'analyse chimique de sédiments terrestres ou de roches lunaires ou météoritiques. On a seulement trouvé des hydrocarbures de structure et de longueur définies, qui ne semblent pas pouvoir être apparus par hasard et sont très probablement d'origine biologique, dans des roches terrestres très anciennes, mais non antérieures aux plus anciens fossiles connus, et fournissant elles-mêmes des microfossiles (série d'Onverwacht en particulier).

Cependant, depuis 1950 avec M. Calvin et surtout depuis 1953 avec S. L. Miller, on a pu synthétiser des produits biologiques dans des conditions supposées comparables à celles de l'atmosphère primitive de la terre. Ainsi, une décharge électrique dans un mélange de méthane, d'ammoniaque, d'eau et d'hydrogène entraîne-t-elle l'apparition d'acides aminés (glycine, alanine), d'aldéhydes, d'acide cyanhydrique, d'acide formique et d'acide lactique notamment. Par polymérisation de l'acide cyanhydrique se forment aussi, dans ces expériences, des bases puriques et pyrimidiques, et même des porphyrines (substances essentielles de l'hémoglobine et des chlorophylles). Les acides aminés eux-mêmes semblent provenir de l'hydrolyse d'un polymère d'acide cyanhydrique.

Si une substance ainsi apparue favorise par catalyse les réactions qui conduisent à sa propre formation (autocatalyse), cette dernière va être grandement facilitée. On peut considérer cela comme un cas de sélection naturelle et parler de néo-darwinisme chimique; la chaîne de réactions alors en cause fonctionne plus intensément et utilise les produits de départ qu'elle « détourne » à son seul profit. Calvin a cherché, de même, à expliquer comment des molécules optiquement actives ont pu se former sélectivement (on sait que les êtres vivants n'utilisent, le plus souvent, que l'un des isomères optiques d'une substance, les acides aminés de forme L notamment).

S. Fox a pu, de son côté, produire des polypeptides en milieu anhydre par chauffage modéré d'acides aminés. De la même façon, Schramm a obtenu, surtout en milieu anhydre, des nucléosides à partir d'une base (adénine) et d'un sucre (ribose ou désoxyribose) et même des polynucléotides, c'est-à-dire des acides nucléiques, à partir de nucléotides ou de nucléosides. Ce résultat a été étendu par Calvin en effectuant des expériences en milieu aqueux, plus compatible avec les conditions terrestres primitives. Par l'emploi de dérivés de l'acide cyanhydrique, Calvin a pu unir des acides aminés, mais seulement à l'état de dipeptides. La présence d'une chaîne polynucléotidique, une fois constituée, exerce un effet favorisant sur la synthèse d'une chaîne complémentaire par une sorte d'autocatalyse. Une chaîne d'acide polyadénylique accélère ainsi la formation d'une autre d'acide polythymidylique.

Les chaînes peptidiques et nucléiques étant ainsi formées séparément, il faut rechercher le processus qui les a mises en rapport, de manière que les premières se forment, comme actuellement, sous la direction des secondes. Calvin a montré, à ce sujet, que l'adénine semble manifester une tendance plus forte à s'unir aux acides aminés, ce qui pourrait être à l'origine de la formation des acides ribonucléiques de transfert, où l'acide aminé est fixé à l'adénine d'une séquence cytidine-cytidine-adénosine. Un système de présentation des acides aminés de ce genre, en rendant plus efficace leur enchaînement, peut être conçu comme ayant un avantage sélectif : les acides aminés disponibles seront plus vite consommés par ce processus-là.

L'existence de chaînes peptidiques et nucléiques entraîne nécessairement leur organisation tridimensionnelle en hélice. De la même façon, l'apparition de molécules de lipides et de protéines conduit à la formation de structures membranaires qu'on peut produire artificiellement. C'est ainsi que se seraient formées les premières membranes cellulaires.

La sélection naturelle dont nous avons parlé expliquerait alors la suite de l'évolution, encore qu'on ignore pourquoi les Bactéries n'ont guère dépassé le stade de la cellule procaryote tandis que d'autres organismes ont accru leur complexité : est-ce seulement parce que, par hasard, ces dernières ont rencontré des milieux plus agressifs? Ils vivent souvent maintenant dans les mêmes milieux que les Bactéries, tout en étant beaucoup plus compliqués que celles-ci.

Calvin a trouvé que l'aptitude des acides aminés à former des couples dipeptidiques dépend des acides aminés en cause; la fréquence des couples d'acides aminés successifs dans les protéines naturelles actuelles est plus ou moins en relation avec cette aptitude. Gavaudan et Besson ont, pour leur part, mis en évidence une remarquable loi mathématique régissant la succession des bases qui commandent la localisation des acides aminés dans les protéines. Ces découvertes pourraient donc laisser ouverte la possibilité d'une formation orientée de ces structures, due à des propriétés de la matière que nous ne connaissons pas encore, mais dont la biologie décrirait les manifestations. Sans doute une partie de ce qui apparaissait jouissait-il d'un avantage sélectif, mais ce n'est pas au hasard que tel ou tel être apparaissait.

LA BIOCHIMIE

La compréhension de la structure des substances de base des êtres vivants fut extrêmement laborieuse. La structure des glucides et des protéines doit énormément à E. Fischer (1852-1919). Les enzymes étaient connues depuis la découverte par A. Payen (1852-1871), et J.-F. Persoz (1805-1868), en 1833, de la « diastase », puis celle de la pepsine par Schwann en 1836, et plusieurs enzymes furent isolées peu après, notamment par E. Bourquelot (1851-1921). Leur rôle dans la fermentation, puis dans tout le métabolisme, devint clair progressivement après la découverte de la zymase par Büchner.

L'analyse plus fine du métabolisme passa par la découverte de très nombreuses enzymes et de substrats intermédiaires par des savants comme C. F. Cori, G. Embden (1874-1933), A. Harden (1865-1940), H. A. Krebs, D. Keilin (1887-1963), F. A. Lipmann, O. Meyerhoff (1884-1951), O. H. Warburg (1883-1970), H. O. Wieland (1877-1957) et W. J. Young (1878-1942).

Les méthodes de séparation des principes biochimiques par chromatographie, électrophorèse, etc., et de leur dégradation ménagée par des enzymes convenables permirent, notamment, à partir de 1950, le déchiffrement de l'ordre de succession (séquence) des acides aminés des chaînes protéiques. C'est d'abord F. Sanger qui détermina la séquence des acides aminés de l'insuline en 1945-55. Les travaux difficiles de ce genre se sont poursuivis, et l'on peut actuellement publier des atlas entiers de telles séquences.

La constatation par V. M. Ingram en 1958 de la signification biochimique d'une mutation humaine affectant l'hémoglobine de certains malades, dont un seul amino-acide est alors remplacé par un autre, eut une très grande importance dans l'établissement de la génétique biochimique. En outre, des méthodes comparables à celles utilisées pour les protéines ont permis à H. W. Holley, D.R. Mills et S. Spiegelman de déterminer la séquence des bases de certains ARN.

Parallèlement, l'utilisation des techniques biophysiques, jointes dans une certaine mesure à l'observation directe, mettait en évidence la disposition tridimensionnelle des molécules d'intérêt biochimique, au moins après leur séparation.

D'une manière générale, toutes les disciplines biologiques se ramènent à la biochimie, ou biologie moléculaire (en attendant d'aller plus loin encore : dès 1960 A. Szent-Gyorgyi écrivit une introduction à une biologie


Archivio Longo

▲ **Femelle de griffon allaitant ses nombreux chiots ; la capacité des nouveau-nés de « chercher » le mamelon maternel et d'en sucer le lait fait partie du comportement inné et se traduit par un comportement instinctif.**

sub-moléculaire !). C'est ainsi qu'après s'être appliqué à découvrir la structure des hormones, on s'occupe maintenant de préciser leur mode d'action au niveau biochimique. Comment sont-elles transportées ? Agissent-elles au niveau de la membrane des cellules-cibles sans y pénétrer ? Ou bien y pénètrent-elles et commandent-elles au noyau de diriger par des ARN de transfert convenables telle ou telle synthèse ? Ce sont quelques questions auxquelles on commence à donner des réponses.

LA PSYCHOPHYSIOLOGIE

Sans développer la question du psychisme, il faut néanmoins souligner son universalité. Il y a longtemps qu'on a envisagé de parler de psychisme des Protozoaires, et on ne voit pas pourquoi on refuserait le terme aux plantes, dont d'ailleurs les cellules banales possèdent des propriétés électrophysiologiques (conduction de potentiels d'action) comparables à celles des cellules nerveuses. Les comportements instinctifs se sont trouvés moins profondément séparés des conduites susceptibles d'apprentissage, puisque les jeunes animaux apprennent aussi. Inversement, les comportements conscients n'en sont pas moins souvent à base automatique.

Dans ce domaine aussi, on s'applique à chercher des fondements chimiques aux phénomènes observés. A côté de médiateurs présents dans l'organisme, et que l'on complète expérimentalement par un arsenal pharmacologique toujours plus important, des substances comparables aux phéromones sont souvent en cause dans les comportements animaux.

Au total, les phénomènes psychiques sont explorés comme les autres faits biologiques : leur description doit être soigneusement poursuivie et être enrichie de l'expérimentation et de la recherche de leur support physico-chimique.

La pensée elle-même ne paraît pas devoir être exclue de ces préoccupations. Toutefois, il faut bien voir que lorsque sera trouvé le fondement moléculaire des pensées, par elles-mêmes immatérielles, on ne les aura pas vraiment expliquées. On se heurte là à une des limites que le fondateur de l'électrophysiologie, E. Du Bois-Reymond, posait à la connaissance scientifique. Il faut s'empresser d'ajouter que le physicien rencontre un tout aussi grand mystère lorsqu'il parle de matière ou d'énergie. La compréhension de la nature de la matière, entendons maintenant celle qui constitue les particules « élémentaires » et qu'on assimile mystérieusement à l'« énergie », était l'autre limite posée par Du Bois-Reymond, qui ajoutait que les deux n'en faisaient peut-être qu'une. A ce point des choses, et en demeurant dans le domaine de la science, on conçoit bien que l'idée d'une âme immatérielle, à la manière platonicienne, avait malgré tout quelque justification !...

L'ANTHROPOLOGIE

L'homme est apparu plusieurs fois déjà dans notre exposé. Pendant longtemps, il parut normal de ne pas l'isoler du monde animal, dont il apparaissait comme l'aboutissement au moins rationnel. Les sentiments religieux jouèrent sans doute un grand rôle pour exagérer ce qui le séparait des autres êtres vivants. Non content de lui adjoindre sélectivement une âme immatérielle qui faisait de lui seul autre chose qu'une machine, on pouvait chercher à lui trouver une originalité morphologique qu'il n'a pas. Ainsi, l'essai d'anatomie comparée de Goethe sur l'os intermaxillaire fut suscité par la tentative qu'on avait faite de séparer l'homme des Mammifères par l'absence supposée chez lui de cet os. Actuellement, l'homme est à nouveau replacé dans le cadre du monde vivant, aussi bien d'un point de vue physique que psychique. Mais l'intérêt bien naturel qu'il a pour lui-même justifie l'existence de sciences indépendantes : l'anthropologie pour son étude physique et l'ethnologie pour celle de son comportement social. Cette dernière discipline assure la liaison entre la biologie et l'ensemble des sciences humaines, qui s'appliquent à décrire l'immense complexité du psychisme humain et de ses conséquences, en attendant que la biologie puisse peut-être un jour en rendre compte.

ÉPILOGUE

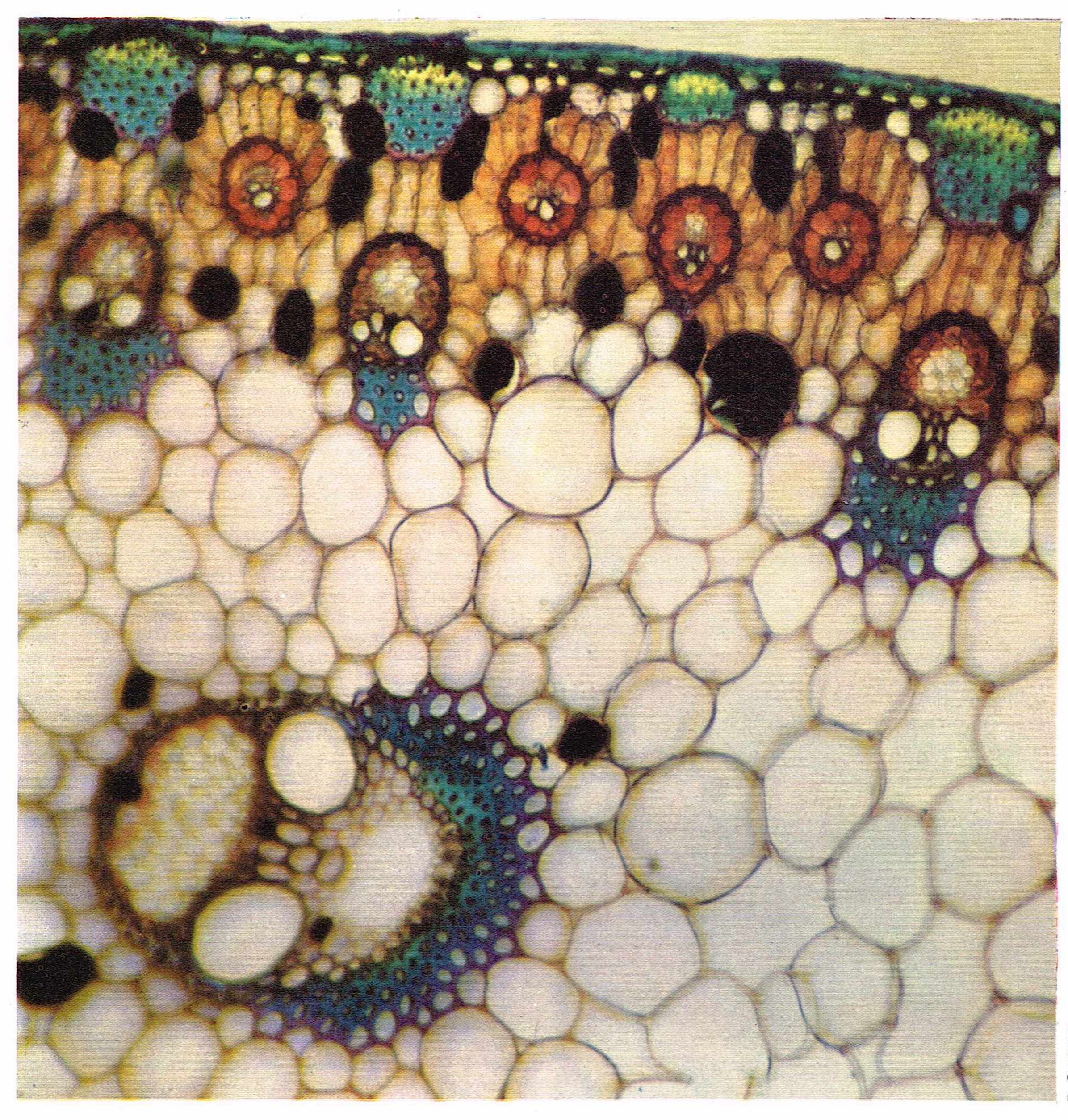
La biologie travaille à sa propre destruction. Elle se résoudra en biochimie, à un moment d'ailleurs où celle-ci ne sera qu'un département d'une physique devenue, comme l'indique l'étymologie du mot, l'étude de toute la nature. Pour sa consolation, la biologie aura auparavant absorbé toutes les sciences humaines. Mais pour tendre vers ce grandiose résultat unitaire, le meilleur n'est pas de vouloir réduire dès maintenant les sciences humaines à la biologie et celle-ci à une biochimie fondue à a physique.

La connaissance des problèmes mêmes dont on doit rendre compte est évidemment indispensable à leur solution. A tous les niveaux de l'organisation, tout reste à voir et à démontrer expérimentalement. Le morphogéniticien a besoin de la morphologie pour pouvoir l'expliquer. Le biochimiste a besoin de la morphologie cellulaire, sans cela il en serait peut-être encore à nous expliquer la vie par les colloïdes. Liebig avait tort de vouloir sauter l'étape du « ferment vivant » qu'est la levure, même si, effectivement, elle agit par des procédés chimiques. C'est pourquoi, dans une biologie moderne qui sait dépasser les enthousiasmes puérils, il y a place pour l'étude de ce qui s'observe à l'œil nu comme pour l'expérimentation à l'échelle des particules élémentaires. Ainsi s'achemine-t-on vers le dernier mot de l'étude unitaire de la nature, qui évidemment ne sera jamais dit !

MICHEL GUÉDÈS.

BIBLIOGRAPHIE

Se reporter aux bibliographies des différents chapitres qui seront ultérieurement développés dans le cadre des trois volumes consacrés à la Biologie.



P. Castano

◀ *Les cellules peuvent être groupées en tissus qui ont des fonctions particulières; sur cette photo, on observera différents tissus végétaux mis en évidence par une coloration topographique (× 100 × 2,8).*

NATURE CELLULAIRE DES ÊTRES VIVANTS

Les méthodes modernes d'observation

Avec des facultés d'observation qui valaient certainement les nôtres, mais avec des moyens techniques bien modestes, l'homme de la préhistoire connut la complexité des êtres vivants qui l'entouraient.

Il sut qu'ils étaient constitués d'un grand nombre d'organes, animaux ou végétaux; les os ou le cœur, les racines ou les feuilles sont des organes que l'on apprend à distinguer dès l'enfance. Mais jusqu'à la fin de la seconde moitié du XVIIe siècle, on supposait encore que chaque être vivant n'était qu'une accumulation de substances à l'état « moléculaire », disposées d'une manière extrêmement subtile qui variait suivant la nature de l'organe. On estimait alors que l'homme ne pourrait jamais connaître l'organisation de la matière vivante. La tâche était vaste, pour ne pas dire immense; bien des gens durent penser, comme Bouvard et Pécuchet, que la substance dont nous sommes faits est « une matière ondoyante et fugace » et que « mieux vaudrait nous occuper d'autre chose ».

Cependant, pour certains, la difficulté qu'ils éprouvaient à percer ce « mystère » constituait l'attrait du jeu; or le jeu est un des plus sérieux qui soient puisqu'il a pour but la connaissance des « secrets » de la nature. On dit aujourd'hui que ces curieux-là sont des « chercheurs »; on disait autrefois des « savants »...

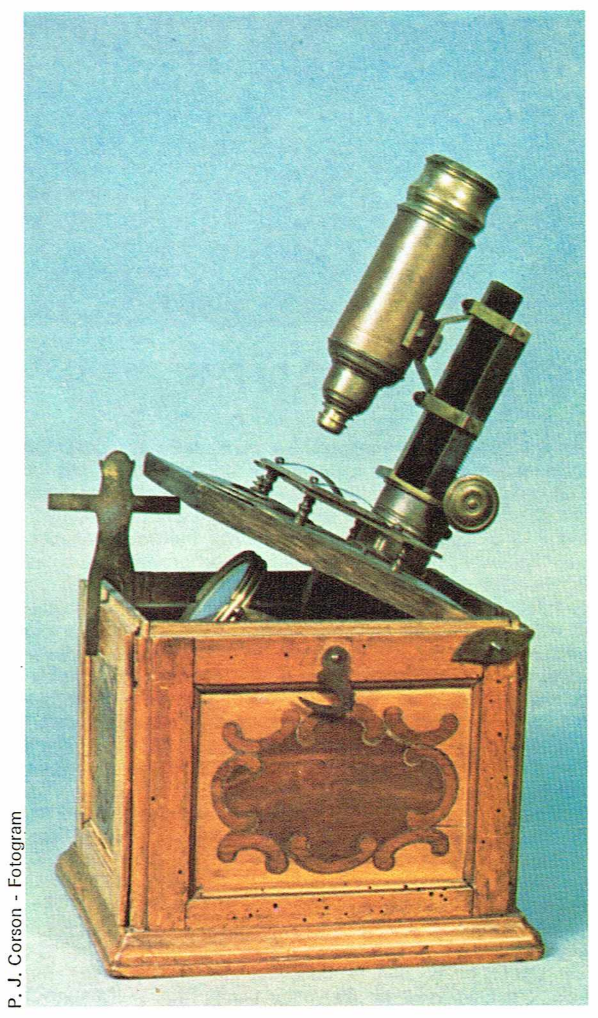
En fait, l'opiniâtreté de ces esprits méthodiques permit lentement de découvrir puis de comprendre ce qu'est la vie. Grâce au microscope, on put constater la nature cellulaire des êtres vivants; puis on se mit à étudier la nature chimique des éléments, des organites que l'on venait de trouver dans les cellules observées. La découverte primordiale fut, comme nous l'avons exposé précédemment, celle de la *cellule,* base unitaire, constituant élémentaire de tous les organes que l'on avait appris à connaître. Elle ne survint que très longtemps après l'invention d'un système optique préfigurant le microscope.

Malpighi ainsi que Leeuwenhoek et Swammerdam furent les premiers à observer et à décrire des cellules vivantes. Puis Corti montra que les cellules végétales contenaient une masse translucide faite d'organites doués de mouvement. L'idée prenait forme : les êtres vivants pouvaient tous être faits de cellules. Ensuite et pendant un demi-siècle, la recherche subit une éclipse. On peut penser que la faiblesse des microscopes que l'on avait utilisés ne permettait pas d'aller beaucoup



F. Arborio Mella

▲ *Jusqu'au XVIIIᵉ siècle, les scientifiques s'attachaient à la description minutieuse de l'organisation des êtres vivants visibles à l'œil nu ; ici, une planche ancienne représentant des plantes officinales (Bibliothèque nationale - Naples).*



P. J. Corson - Fotogram

▶ *Les premiers microscopes, améliorés rapidement grâce aux progrès des techniques de l'optique, permirent d'entrevoir la nature cellulaire des êtres vivants ; ici, un microscope à inclinaison réglable, datant de 1750.*

plus loin dans l'observation ; il faut cependant nuancer cette appréciation : les dessins des premiers microscopistes ne manquaient pas de précision et restent, à tous égards, des documents admirables.

Le progrès des techniques optiques permit l'amélioration des microscopes ; on les rendit plus maniables et ils devinrent alors des outils pratiques et capables de satisfaire la curiosité des observateurs, à la fois scientifiques et philosophes ; on allait passer de la dispute philosophique de salon à la découverte de principes vitaux et à celle de la structure, voire du fonctionnement cellulaire ; l'expérimentation scientifique devenait une réalité dans le domaine de la biologie. Si, du point de vue mécanique, les difficultés ne furent pas très grandes lorsque l'on voulut améliorer le microscope, il n'en fut pas de même avec les systèmes optiques ; les premiers progrès techniques permirent cependant de belles observations et le mûrissement de la théorie cellulaire. Une nouvelle science apparut au XIXᵉ siècle : l'*histologie*. Puis, les recherches et les descriptions successives qui allaient établir les bases morphologiques et fonctionnelles de la cellule conduisirent, à la fin du XIXᵉ siècle, à la naissance de la *cytologie*.

A ce moment, la plupart des aberrations de l'optique du microscope étaient partiellement corrigées ; en particulier, les aberrations chromatiques dues à l'inégalité de réfraction des composants spectraux de la lumière blanche et les aberrations de sphéricité. Jusqu'alors, l'agrandissement pratique ne dépassait guère 500. L'utilisation de plusieurs lentilles dans un même objectif et un traitement approprié du verre permirent de pallier tous les inconvénients majeurs. Il existe maintenant diverses qualités d'optique ; les objectifs les moins parfaits, dits *achromatiques*, permettent déjà, dans l'ensemble, une excellente observation des détails cellulaires ; mais les résultats sont plus spectaculaires avec les objectifs *planachromatiques*. Également, pour obtenir une luminosité maximale, on utilise parfois des objectifs traités à la fluorine. De plus, en immergeant l'objet et les objectifs les plus puissants dans un liquide dont l'indice de réfraction est proche de celui des lentilles, on évite les phénomènes de réflexion totale, notamment la perte de lumière entre l'objet et l'objectif. Le grandissement limite est environ 1 200. Mais il faut noter que les possibilités de grossissement du microscope sont toujours limitées par la nature même de la source lumineuse : en effet, pour un objectif puissant, même extrêmement perfectionné, le *pouvoir séparateur*, donc le grossissement, dépend directement de la longueur d'onde de la source lumineuse visible. Les plus faibles longueurs d'onde permettent les meilleures résolutions : c'est pourquoi une source bleue ou violette est particulièrement adéquate pour l'observation des détails cytologiques. En utilisant une source ultraviolette à vapeur de mercure, dont le spectre d'émission possède un pic aux alentours de 3 650 Å (1 angström = 1/10 000 micron, lequel est égal à 1/1 000 mm), il est possible de parvenir à une analyse plus fine ; mais il est bien évident que l'observation ne peut pas être directe : il faut faire des photographies des images ultraviolettes, ce qui nécessite l'emploi d'émulsions spéciales et d'un système optique en quartz, qui absorbe très peu le rayonnement ultraviolet (UV) ; en France, de belles observations ont été effectuées de cette manière par J.-P. Thiéry dans le domaine hématologique (1960-65). Mais, là encore, le grandissement reste limité.

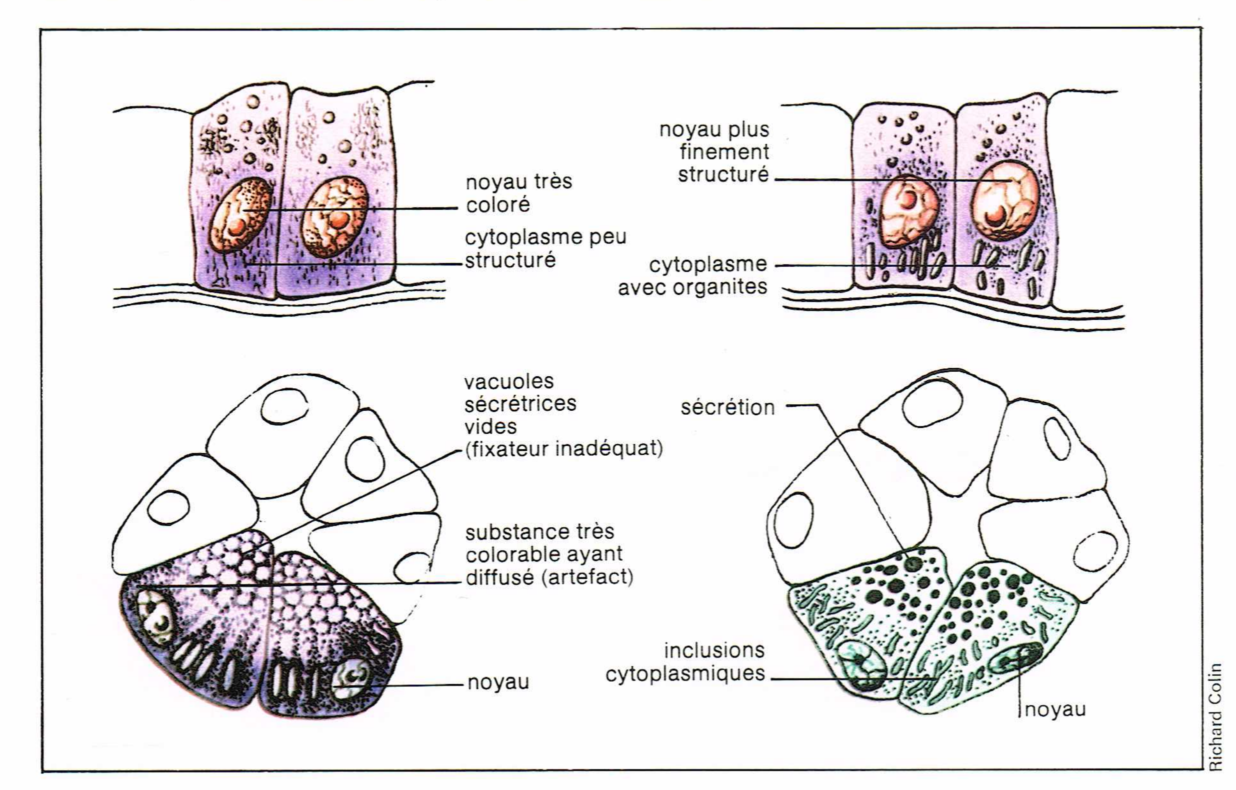
Alors que les physiciens parvenaient à rendre les microscopes réellement parfaits, les biologistes réussissaient à mettre au point des techniques de *coloration* particulièrement adaptées à tel ou tel type de cellule et à tel ou tel de leurs organites. Or, ces colorations ne peuvent se concevoir qu'après une *fixation* convenable des cellules, c'est-à-dire que l'on doit, avant de les colorer, tuer les cellules aussi rapidement que possible, sans pour autant modifier la structure du protoplasme, ou, du moins, sans trop la transformer. Ainsi, les pionniers de l'histologie purent constater que certaines fixations, trop violentes, provoquaient ce que l'on nomme des *artefacts*, c'est-à-dire des transformations qui donnent à certains éléments de la cellule un aspect tout à fait différent de la réalité (réalité qui est maintenant bien connue). Bien des observateurs ont ainsi décrit des organites et des struc-

tures souvent fort beaux, mais dépourvus de toute signification biologique. Dans l'ensemble, on a pu éviter cet écueil en n'utilisant plus qu'un petit nombre d'agents fixateurs chimiques ; ceux-ci sont adaptés et combinés pour obtenir des résultats optimaux suivant le type cellulaire que l'on étudie.

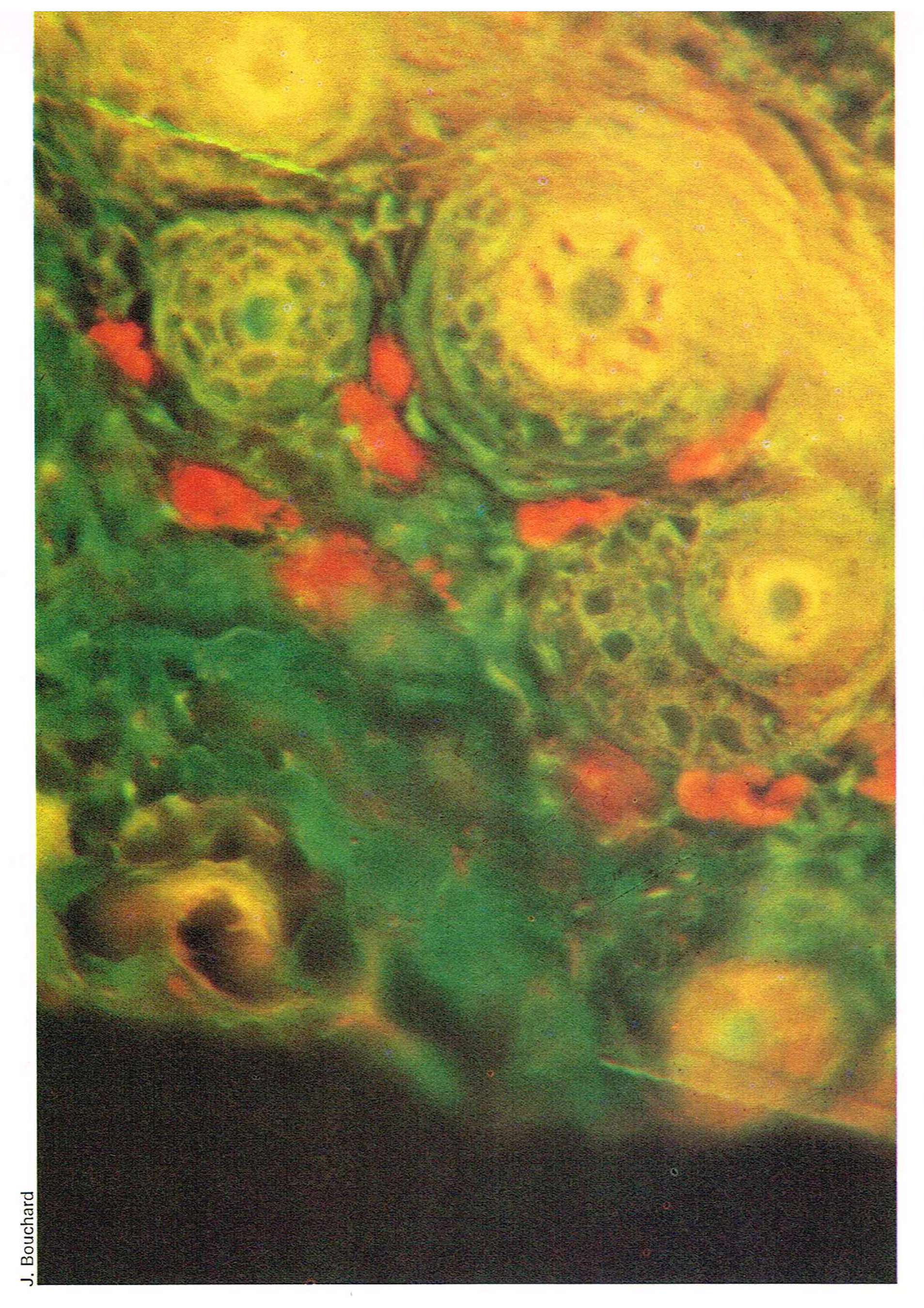
Plusieurs techniques microscopiques sont venues s'ajouter à celles dont il vient d'être question. Nous citerons d'abord la technique de *fluorescence ;* on utilise pour cela une source d'UV : le rayonnement incident provoque la fluorescence de certains organites cellulaires et l'image peut en être observée directement. On parle de *fluorescence primaire* lorsque les organites donnent une image colorée sans préparation particulière des cellules ; on parle de *fluorescence secondaire* s'il est nécessaire, pour obtenir une image, de traiter préalablement celles-là par une substance chimique. Voici quelques exemples : une fluorescence primaire particulièrement vive peut être obtenue en observant au microscope des fibres de coton éclairées par une source d'UV ; le coton apparaît en bleu vif. Il est bien sûr indispensable d'éliminer l'excès du rayonnement UV entre l'objet et l'œil de l'observateur : cet excès détruirait tout simplement la rétine ; on utilise donc des filtres d'arrêt qui sont appropriés à la source. La fluorescence bleue du coton est alors parfaitement visible sur un fond totalement noir. Un autre exemple, celui de la mise en évidence de la chlorophylle : on observe une feuille mince de plante aquatique, l'élodée par exemple, ou tout simplement une tranche fine de feuille de poireau, détachée avec une lame de rasoir ; elles apparaissent vivement colorées en rouge sous l'objectif d'un microscope à fluorescence ; en effet, la chlorophylle, contenue dans de petits organites caractéristiques des plantes photophiles, les chloroplastes, donne une fluorescence rouge, extrêmement facile à mettre en évidence et à localiser dans les cellules. Un troisième exemple, qui demande une technique de coupe nettement plus élaborée, est la mise en évidence de certaines vitamines, en particulier la vitamine A ; sur coupe faite dans un organe frais, non fixé, la vitamine A donne une fluorescence jaune verdâtre assez brillante, mais labile après moins d'une minute d'observation ; cela suffit pour qu'il soit possible de la localiser, voire de la doser. Les longueurs d'onde émises par les substances fluorescentes peuvent être déterminées par *spectrophotométrie.*

L'idée d'utiliser les propriétés fluorescentes de certains éléments chimiques contenus dans les organes vient sans doute de Brewster (1867), puis de Helmholtz (1896) ; mais elle fut vraiment mise en pratique en 1909 par R. Dubois pour la détection de la pyrophorine que l'on trouve dans le sang et les organites qui, chez certains Insectes, peuvent produire de la lumière. C'est à Montpellier que Derrien et Turchini réalisèrent les premières observations d'envergure avec cette technique ; à partir de 1924, ils réussirent à localiser diverses porphyrines et d'autres substances, très variées ; l'*histofluoroscopie* était née.

▲ ***Schéma très théorique montrant le parcours des rayons dans le microscope optique (à gauche) et le trajet du faisceau d'électrons dans le microscope électronique (à droite).***



◀ ***Avant de colorer des cellules, il est généralement nécessaire de les tuer ; cette fixation entraîne parfois des modifications ou artefacts. En haut, des cellules de revêtement épithélial sont fixées par un mélange acide (à gauche) ou un mélange neutre (à droite) ; la coloration utilisée est la même dans les deux cas. En bas, des cellules glandulaires fixées et colorées de façon différente.***



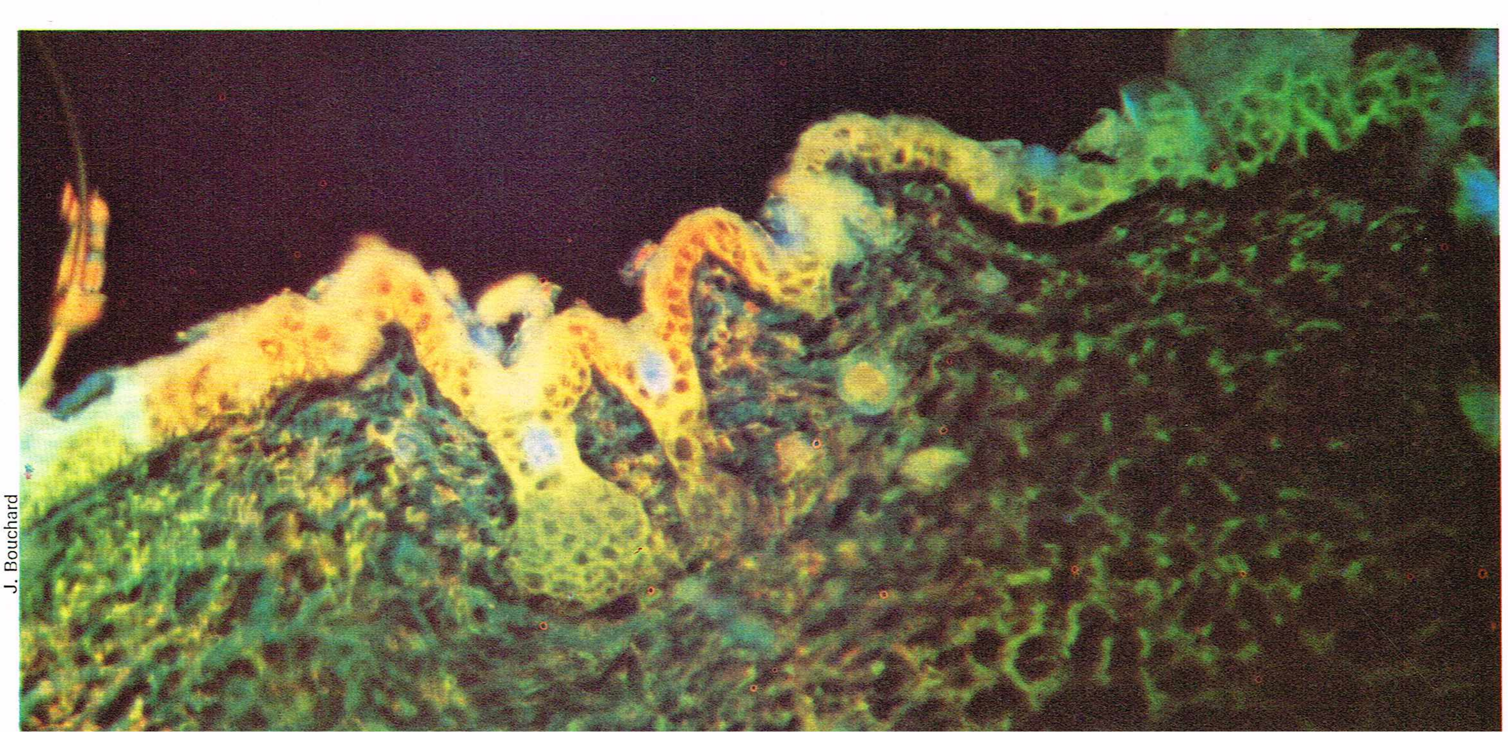
J. Bouchard

▲▼ ***Des cellules traitées par une substance chimique, l'orange d'acridine, montrent une fluorescence secondaire lorsqu'on les observe au microscope en utilisant une source de lumière UV. En bas, coupe de peau où l'on distingue nettement l'épiderme et ses dérivés (follicules pileux et glandes); le derme et l'hypoderme sont moins fluorescents. En haut, à plus fort grossissement, on trouve des mastocytes, cellules du conjonctif à fluorescence extrêmement vive (cellules à histamine et héparine).***

Par ailleurs, on s'est aperçu que diverses substances, utilisées à des doses extrêmement faibles, permettent de mettre en évidence certaines cellules ou certains organites cellulaires : on parle alors de fluorescence secondaire. Ainsi, divers produits chimiques, dérivés de l'*acridine,* qui, par eux-mêmes, n'ont aucune fluorescence en UV, provoquent, lorsqu'on les emploie en très faible concentration, des fluorescences vertes, rouges, orange ou jaunes en pénétrant dans tel ou tel organite cellulaire; on peut ainsi traiter — pour ne pas dire colorer — des cellules vivantes, dont le noyau sera jaune ou vert et le reste du protoplasme souvent orange et chargé de granulations de couleurs diverses; des images splendides peuvent être ainsi obtenues avec des cellules sanguines ou, mieux, des cellules de moelle osseuse. Cette technique est couramment utilisée en clinique pour l'étude des cellules normales ou pathologiques prélevées au niveau du col utérin; la méthode, perfectionnée par divers auteurs, dont von Bertalanffy en 1956-1958, peut être appliquée à l'analyse de prélèvements cellulaires effectués dans de nombreux organes.

Récemment, la microscopie de fluorescence a trouvé une autre application : la recherche des protéines spécifiques dans la cellule; l'existence d'une protéine est rendue visible en UV par une substance qui, mise au contact des cellules, se fixe sélectivement sur elle et donne une brillante fluorescence (Coons); cette méthode permet l'étude des réactions d'immunologie au niveau cellulaire; elle a induit, en particulier, un nouveau développement des recherches de cancérologie ou de pathologie rénale; ainsi, au Canada, Gold et Freedman ont pu mettre en évidence l'apparition de certains cancers digestifs grâce à une technique d'immuno-fluorescence : à Villejuif, depuis 1966, Kleist et Burtin sont parvenus, en collaboration avec des Canadiens, à mettre au point un test qui pourrait permettre le dépistage, et doit être pratiqué sur une grande échelle.

Une autre technique d'utilisation du microscope a permis des progrès considérables dans l'étude des cellules observées à l'état frais; il s'agit de la *microscopie en contraste de phase.* On sait que les cellules vivantes sont translucides à l'état frais et qu'il est difficile d'étudier leur structure; cependant, on peut augmenter les contrastes en utilisant un dispositif optique adéquat; le principe est fondé sur les faibles différences d'indice de réfraction des organites cellulaires; or, avec un objectif normal, le microscope ne permet pas de distinguer ces organites qui provoquent cependant des différences de marche dans les ondes lumineuses qui les traversent; par contre, l'introduction d'une « lame de phase » dans l'objectif permet de transformer les variations de marche, donc de phase, en variations d'amplitude, et, dans ce cas, les organites deviennent distincts. Il faut savoir qu'un rayonnement lumineux qui traverse un organite donne deux rayons : l'un se dirige vers l'objectif en respectant les lois de l'optique géométrique, l'autre s'y dirige également, mais en subissant la diffraction; ce dernier rayon



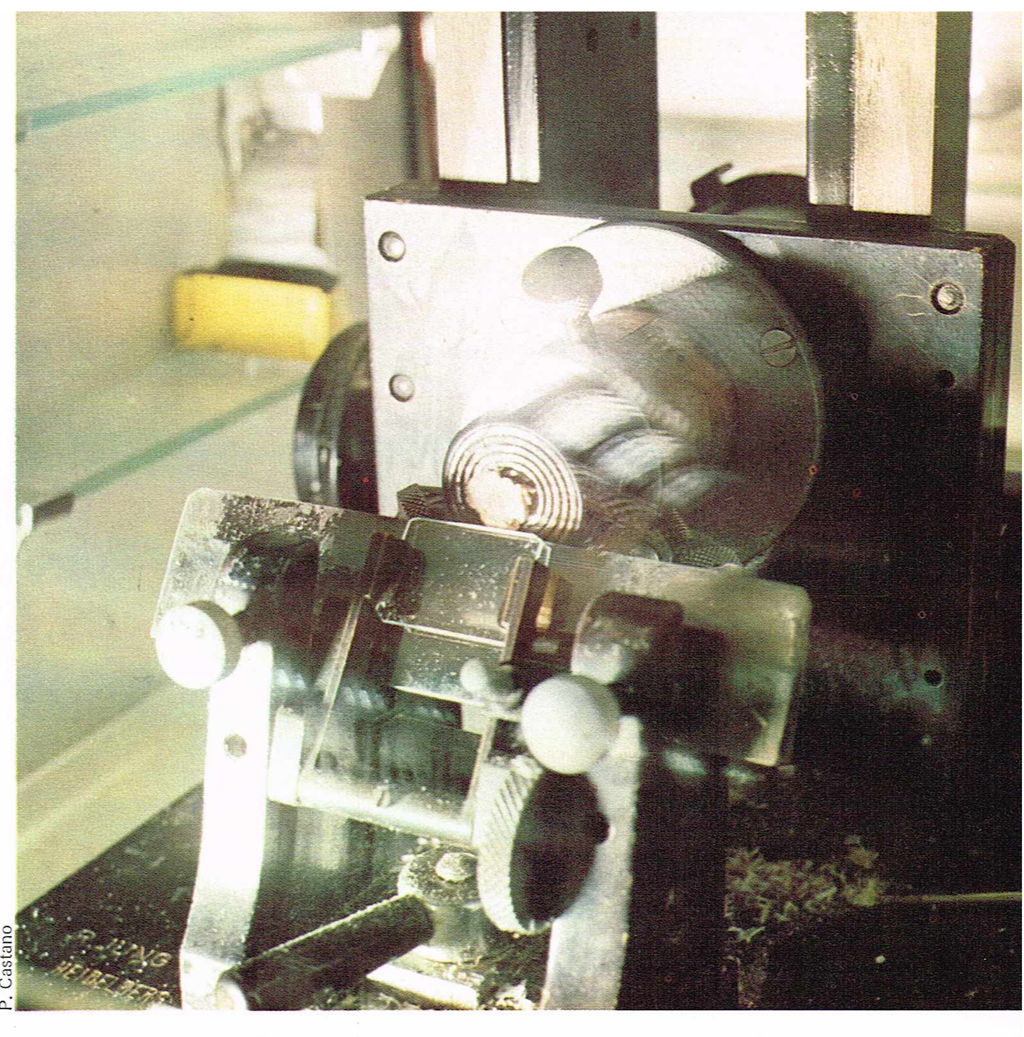
J. Bouchard

est retardé de $\frac{1}{4}$ de phase par rapport à l'autre ; la « lame de phase » peut être une mince couche de vernis, qui va précisément retarder le premier rayon, ou rayon normal, de $\frac{1}{4}$ de phase ; ainsi, dans le plan-image, les deux rayons sont en phase et peuvent interférer : on observe alors un contraste entre le milieu cellulaire et l'organite dont les indices sont différents et, par conséquent, dont les images d'interférence sont différentes. Ce principe a été découvert par Zernike, en Hollande ; il découle de la connaissance de la structure ondulatoire de la lumière, acquise par les travaux d'E. Abbe et de L. de Broglie. Un système plus précis que celui de Zernike a été mis au point par Françon ; en outre, Nomarski a permis d'obtenir des résultats encore plus nets avec la technique d'examen en *contraste interférentiel*.

Les travaux effectués depuis une trentaine d'années ont beaucoup amélioré notre connaissance de la cellule vivante puisque sa structure peut être étudiée sans que l'on risque la création d'artefacts et puisque l'on peut observer son comportement. Ainsi, de belles recherches ont été faites sur des Protozoaires (Dragesco et Weill) ou sur d'autres matériels, comme les cellules urticantes des Cœlentérés (R. Weill). Mais les résultats les plus importants, en particulier dans le domaine de l'hématologie, furent obtenus avec des cellules cultivées. Les travaux de R. May et de son équipe ont permis de mieux connaître le mode de croissance des cellules nerveuses, dont on peut filmer les mouvements image par image : on peut ainsi observer, dans une projection de quelques minutes, les mouvements et la croissance qui se sont produits durant plusieurs heures de culture. Pour leur part, Bessis et Robineaux nous ont apporté des documents fondamentaux sur la structure et les mouvements de cellules contenues dans le sang ou les organes qui lui donnent naissance ; de même, ils sont parvenus à étudier certains aspects des réactions immunologiques et du comportement des cellules cancéreuses ; en fait, bien d'autres chercheurs ont utilisé le contraste de phase pour l'étude du cancer : citons Shelton, Sanford et Westfall ainsi que Landau et Peabody aux États-Unis, Fedoroff et Cook au Canada, ou Barski en France. Ils furent en quelque sorte des pionniers vers les années 1960.

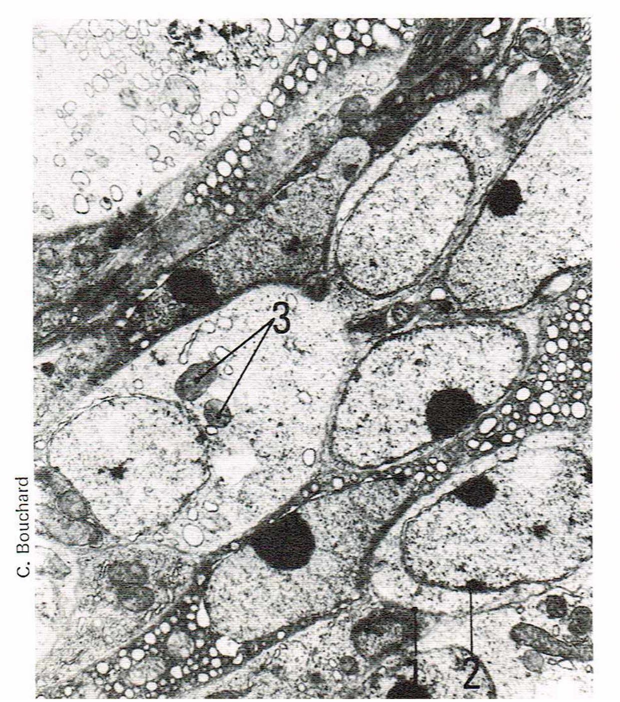
Un progrès particulièrement spectaculaire fut effectué lorsque l'on demanda aux *techniques électroniques* de relayer les techniques optiques. L'idée était simple puisque l'on substituait aux lentilles optiques des lentilles électromagnétiques, la source lumineuse étant alors remplacée par un faisceau d'électrons ; de ce fait, des lentilles électriques ainsi que des lentilles magnétiques constituées par des bobines plates, parcourues par un courant électrique, permettent de focaliser un rayonnement électronique tout comme les lentilles optiques focalisent les rayons lumineux. Or, le « message » donné par des électrons qui traversent un objet est en fait beaucoup plus précis que celui que porterait la lumière ; la longueur d'onde associée à un électron est d'autant plus courte que sa vitesse est plus grande ; cette vitesse est d'autant plus élevée que la différence de potentiel (ddp) qui sert à l'accélérer est plus forte ; par exemple, pour une ddp de 150 V, la longueur d'onde associée à l'électron est déjà de 1 angström, soit 0,000 1 μ (ou millième de mm) ; ainsi, on conçoit aisément qu'un rayonnement électronique engagé dans un système microscopique permette une analyse extrêmement détaillée d'un objet à étudier. En utilisant de hautes tensions (60 000 V), on obtient une longueur d'onde inférieure à 1/20 angström ; cependant, il existe, en microscopie électronique, des aberrations qui limitent les possibilités théoriques de l'analyse. Quoi qu'il en soit, on peut atteindre des grossissements impressionnants : on travaille de manière courante sur des cellules grossies 20 ou 30 000 fois ; certains microscopes actuels permettent d'atteindre 50 000, voire 100 000 fois dans des conditions satisfaisantes ; d'année en année, le pouvoir séparateur des appareils devient plus grand.

Toutefois, il sera impossible de dépasser la limite imposée par la longueur d'onde du faisceau d'électrons. En outre, le microscope électronique est un outil extrêmement coûteux et délicat ; il faut, par exemple, obtenir un vide poussé pour que les électrons puissent traverser la préparation, parcourir le tube et donner une image sur écran fluorescent ou sur plaque photographique ; ce vide doit être très constant et implique un système de pompage efficace et très sûr ; par ailleurs, il faut bien en convenir, la confection des coupes à étudier est une opération extrêmement délicate ; un faisceau d'électrons, même très rapides, ne saurait traverser des coupes épaisses de 2 à 5 μ telles qu'on en observe « en optique » ; cependant, grâce aux coupes ultra-fines, qui sont l'œuvre de gens patients et obstinés, des découvertes réellement sensationnelles ont été faites depuis une vingtaine d'années ; nous aurons l'occasion d'en parler. Enfin, la microscopie électronique comporte un inconvénient majeur : on ne peut observer que des cellules tuées. En conséquence, l'existence d'artefacts doit toujours être envisagée lorsqu'on travaille avec cette technique ; néanmoins, en tenant compte de ce facteur, il est possible de faire des observations assez précises pour confirmer certaines découvertes des biochimistes ou pour faciliter l'interprétation de nombreux phénomènes biologiques.



P. Castano

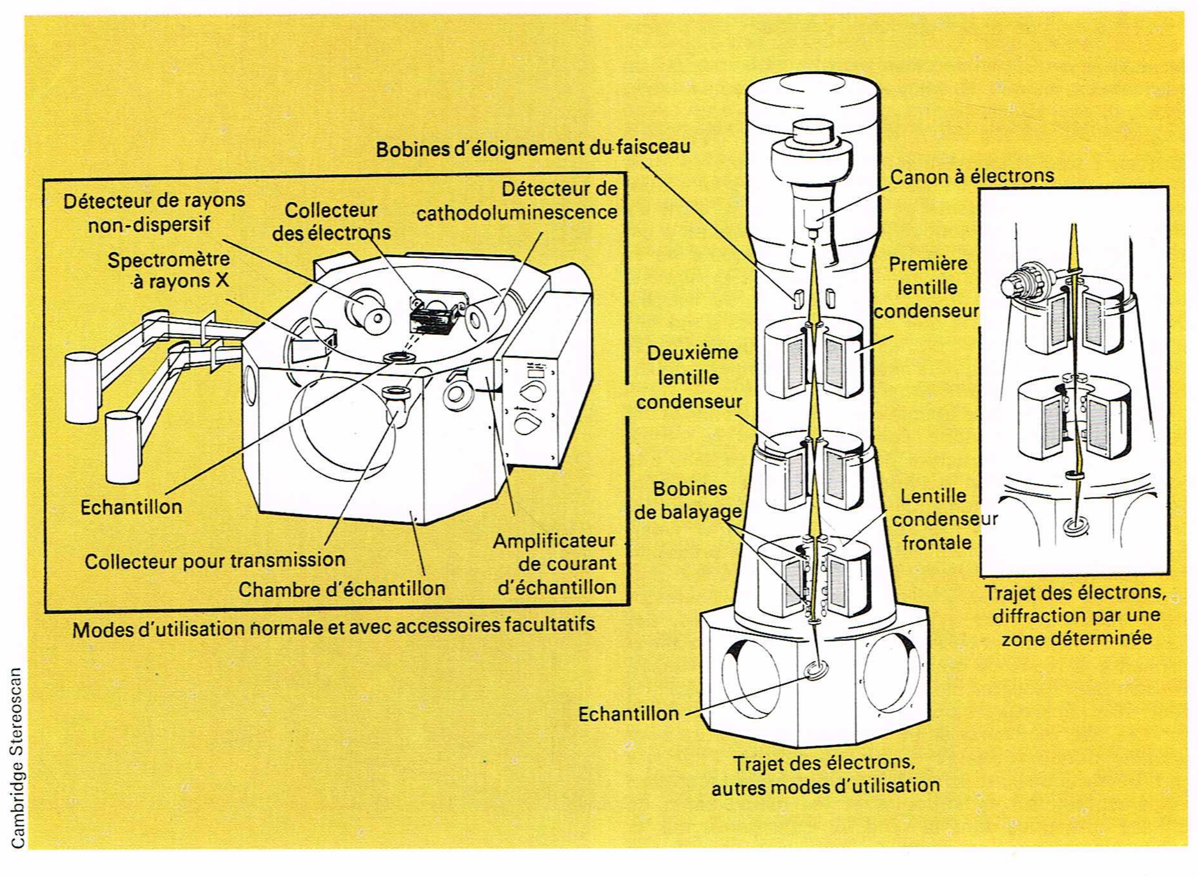
▲ ***L'observation au microscope à UV nécessite la préparation de coupes très minces ; celles-ci peuvent être réalisées à l'aide d'un microtome à congélation.***



C. Bouchard

◀ ***Ensemble de cellules de la paroi de l'estomac d'une ascidie (Urocordés) observées au microscope électronique ;
1, membrane cellulaire ;
2, noyau ;
3, mitochondries.***

▶ *Schéma des différentes parties du microscope à balayage (scanning).*



Cambridge Stereoscan

Pour clore l'énumération des techniques d'observation des structures, il nous faut citer très brièvement la technique du *microscope à balayage,* ou *scanning,* qui est dérivée des techniques électroniques. Dans ce cas, on commence par déposer à la surface de l'objet que l'on étudie un mince film métallique destiné à réfléchir les électrons et l'on observe alors le *relief* de l'objet. Le terme de « balayage » vient du fait que le pinceau d'électrons incidents est très étroit et explore successivement les différents points de la surface à étudier, tout comme cela se passe dans une caméra de télévision ; l'image produite par le pinceau réfléchi est également la conséquence du balayage d'un écran fluorescent ou d'une plaque photographique jouant le même rôle que le récepteur de télévision. Ici, les électrons du pinceau incident viennent buter à la surface de l'objet au lieu de le traverser, provoquant l'apparition d'électrons secondaires ou réfléchis dont la quantité et, par conséquent, le flux sont fonction de la pente de l'objet ou d'un de ses éléments. Plus le flux d'électrons secondaires en un point donné de l'objet est important, plus la tache correspondante est lumineuse sur l'écran d'observation. Ainsi sera restitué, le plus fidèlement possible, le relief. Dans la pratique, les objets ne sont pas coupés en fines tranches mais recouverts sur toute leur surface d'une fine pulvérisation d'or. Ce prétraitement implique une déshydratation spontanée — ou flétrissement — plus ou moins intense de l'objet dont les structures creuses et molles ont tendance à s'affaisser. Pour pallier cet inconvénient, on utilise maintenant un procédé de surgélation par l'azote liquide ; on évite ainsi l'aplatissement des grains de pollen, par exemple, ou des éléments qui constituent les stomates des végétaux, ce qui permet, dans un laps de temps relativement court, d'observer des structures non flétries. Par un tel procédé, il est possible d'étudier non seulement la surface d'organes entiers ou de cellules, mais aussi la surface de fracture de toutes sortes d'objets préalablement fragmentés ou coupés et très brièvement déshydratés avant d'être recouverts de métal (freeze etching) ; on peut ainsi observer un autre aspect du contenu de la cellule.

Nous venons d'évoquer la nature des moyens utilisés par les histologistes et les cytologistes pour l'observation de leurs matériels : nous verrons plus loin quels sont ceux des biochimistes.

Aspect d'une cellule vivante

Schéma de la structure de la cellule

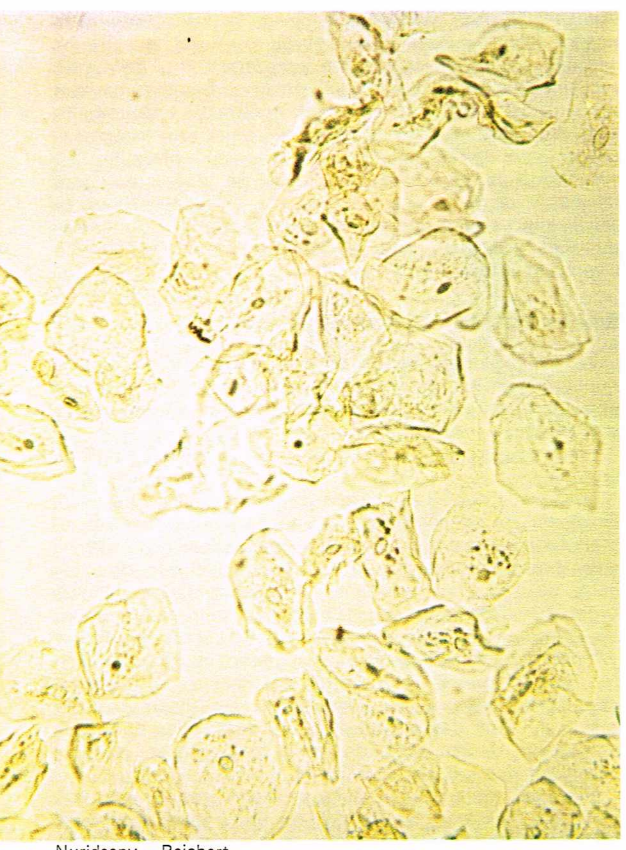
Des cellules humaines sont faciles à observer : les cellules du revêtement de la cavité buccale. Il s'agit sans doute du matériel le plus commode, et, de fait, il est classiquement utilisé. En raclant délicatement la face interne de la joue avec n'importe quel instrument métallique non tranchant, on recueille quelques centaines de cellules buccales, qui demeurent en excellent état dans une goutte de salive ; cette goutte, placée sur une *lame* de verre et recouverte ensuite d'une mince *lamelle,* également de verre, peut être facilement observée au microscope. Sans autre préparation, à faible grossissement (100 ou 200), on voit déjà non seulement les contours des cellules, mais encore les traits essentiels de leur structure : si la plupart d'entre elles sont groupées en amas plus ou moins compacts formant des sortes de dallages grossiers, certaines sont bien séparées des autres et doivent être choisies pour l'examen.

Ces cellules ont un contour polygonal et leur épaisseur est faible ; les bords sont nettement délimités et plus ou moins plissés ; en manipulant les cellules avec une aiguille très fine, il est possible de voir que chacune comporte une pellicule de protection, ou *membrane.*

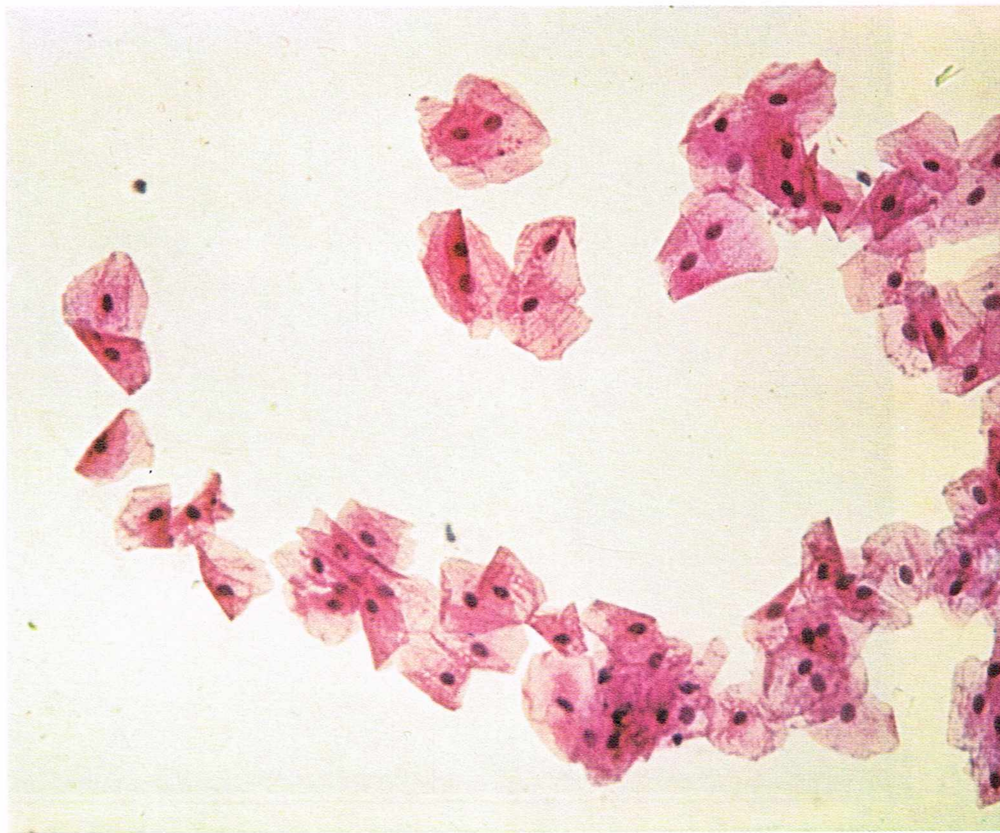
L'intérieur de la cellule est transparent, incolore et granuleux : c'est le *protoplasme.*

Occupant, en gros, le centre de cette cellule, la masse claire du *noyau* est parfaitement délimitable. Celui-ci est circulaire, parfois ovalaire, et de structure granuleuse ; ce sont sa paroi et ses granulations qui le rendent bien visible, assez brillant, ou, comme on le dit plutôt, assez réfringent.

Le reste de la cellule, qui correspond au *cytoplasme,* ou *hyaloplasme,* contient un grand nombre de fines granulations, apparemment immobiles, essentiellement groupées au voisinage du noyau. Une observation attentive à un grossissement supérieur (× 400) montre que ces granulations sont de formes différentes ; ces *inclusions cytoplasmiques* sont variées ; elles correspondent essentiellement à des gouttelettes de graisse, plus exactement de lipides, mais aussi à bien d'autres structures. Il est indispensable de régler très soigneusement l'éclairage qui parvient au contact de la lame de verre ; il convient,



Nuridsany - Reichert



Nuridsany - Reichert

▲ ***Cellules épithéliales buccales observées au microscope optique. A gauche, cellules non colorées; à droite, la coloration à l'*****hématoxyline éosine** ***met en évidence les noyaux.***

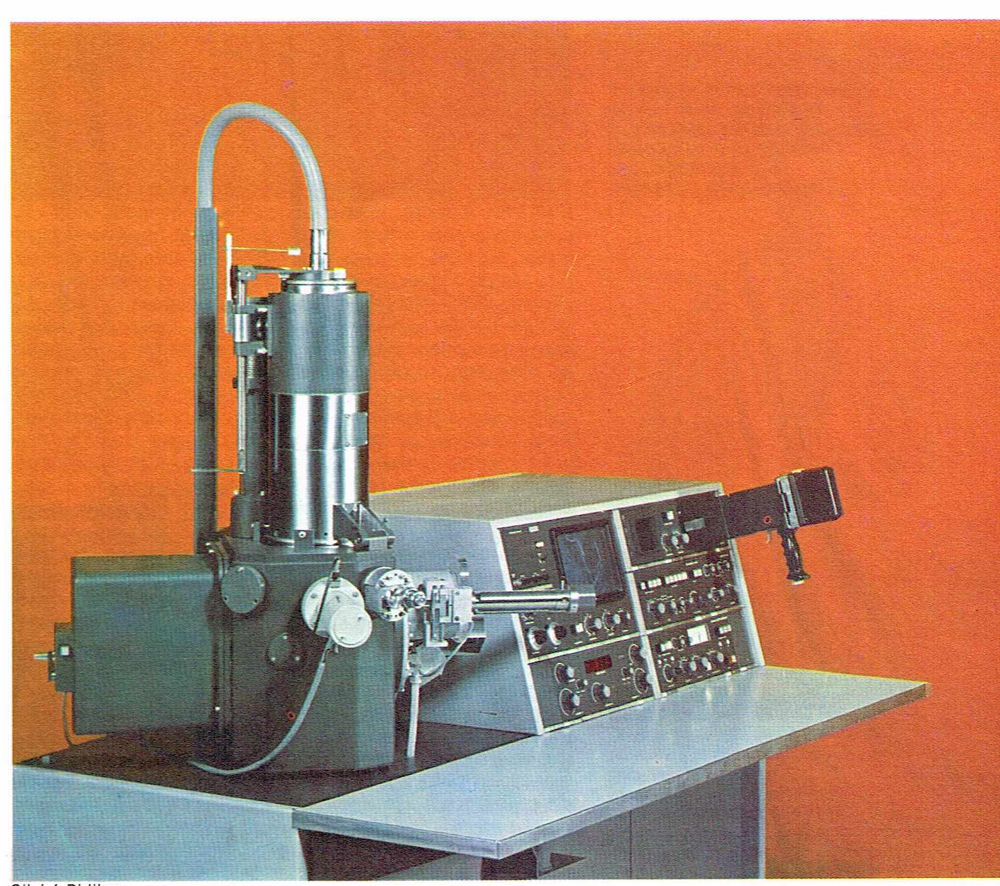
en particulier, de rechercher la position optimale du *diaphragme* du condensateur placé avant la lame et l'objet.

Pour connaître un peu mieux la nature de ces éléments, on *colore* certains d'entre eux avec des substances que l'on trouve très facilement dans le commerce.

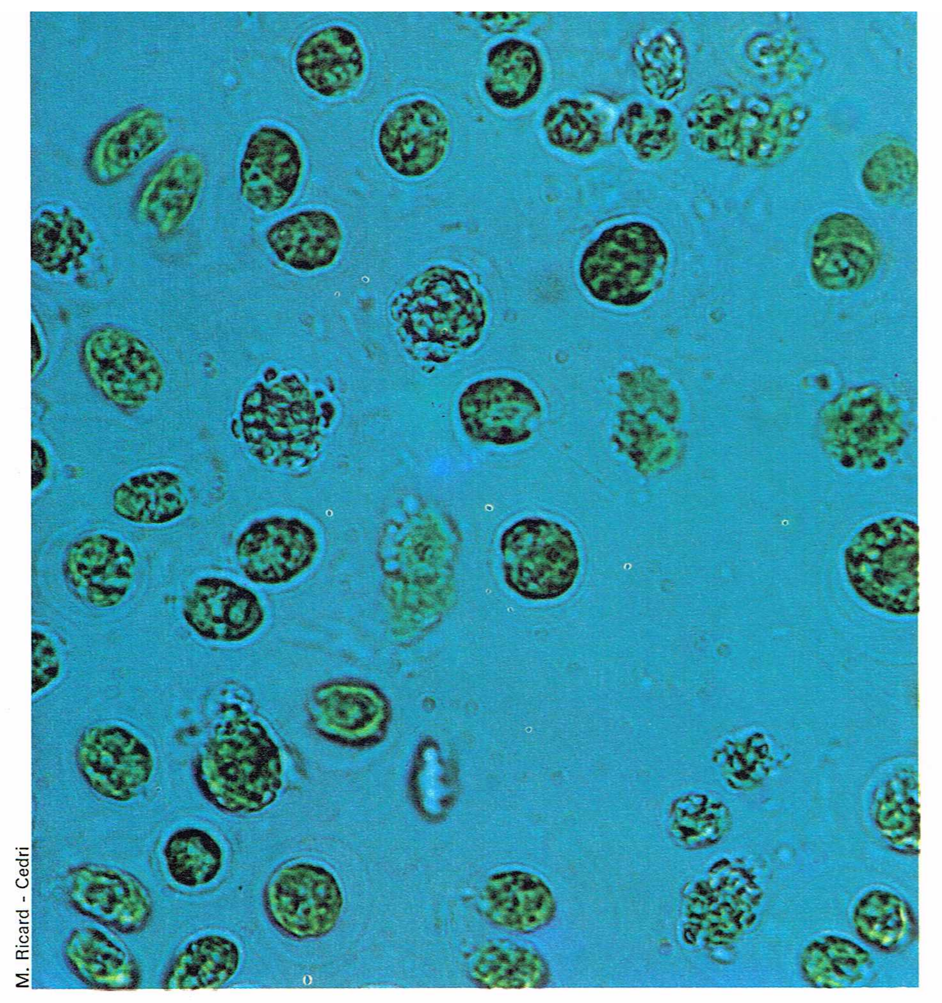
Le *bleu de méthylène* est un colorant extrêmement pratique pour étudier les cellules en milieu aqueux; il s'agit d'un colorant *vital,* c'est-à-dire susceptible d'être utilisé sur des cellules vivantes; en fait, comme tous les colorants, il s'agit d'une substance toxique mais qui, lorsqu'elle est employée à très faible concentration, ne modifie pas notablement la vitalité des cellules et n'altère pas leur structure. Ce colorant nous permet de mieux observer l'organisation générale de la cellule : il se fixe essentiellement sur le noyau, plus exactement sur les éléments réfringents qui constituent ce que l'on appelle la *chromatine* du noyau; celle-ci est en fait un enchevêtrement de filaments appelés *chromosomes,* contenant les caractères génétiques de l'individu. Peu à peu, la coloration bleue du noyau s'intensifie et la vitalité de la cellule diminue. La substance des chromosomes, qui réagit avec le bleu de méthylène, colorant basique, est donc une substance *basophile* (nous verrons ultérieurement que les chromosomes sont constitués de molécules acides). Par contre, le cytoplasme des cellules buccales n'est pas basophile. Si l'on observe les cellules contenues dans une goutte de salive et colorées par un mélange de bleu de méthylène et *d'éosine* (colorant acide rouge), on constate que le noyau devient bleu, alors que le cytoplasme apparaît rose pâle : le cytoplasme est donc une substance *acidophile.*

Ces quelques observations suggèrent déjà que la cellule est un organisme complexe mais dont il est possible de faire l'étude chimique, grâce au microscope. Les spécialistes de l'*histochimie* ou de la *cytochimie* disposent de nombreuses techniques de coloration qui ne font que s'accroître, ainsi qu'en témoignent les revues scientifiques. Il existe des colorations *topographiques,* où l'analyse chimique de la cellule ne peut être que très approximative, et des colorations *histochimiques* pour lesquelles nous avons affaire à des réactions spécifiques du colorant avec un substrat cellulaire localisé. Deux exemples peuvent être appliqués aux cellules buccales : le *vert Janus,* colorant vital, se combine spécifiquement

▼ ***Le microscope à balayage permet l'observation du relief des objets étudiés; son grossissement atteint des valeurs importantes.***



Cliché Philips



M. Ricard - Cedri

▲ *Les* **Chlamydomonas** *sont de petites Algues vertes unicellulaires facilement observables; elles sont mobiles grâce à deux flagelles et possèdent un chloroplaste très développé.*

▶ *Page ci-contre : au milieu, la mobilité des paramécies est due à l'existence d'organites locomoteurs spécialisés : les cils.*

▶ *Les amibes sont des Protozoaires déformables; en effet, elles se déplacent en émettant des pseudopodes. Ceux-ci leur servent également à la capture des proies (phénomène bien visible sur cette photo).*

aux *mitochondries,* usines respiratoires de la cellule; quant au *violet de crésyl,* il permet de mieux observer la chromatine du noyau, mais il doit être employé après fixation : on peut alors observer la présence dans les noyaux des *corps de Barr,* lesquels sont bien développés chez la femme; ils représentent ce qu'on appelle la chromatine sexuelle, particulièrement condensée, donc colorable.

Bien des cellules végétales sont aussi facilement observables. On peut s'en procurer partout, et l'observation microscopique en est extrêmement profitable; on en trouve dans l'eau des mares, sur les troncs des arbres ou sur les vieilles pierres. Il suffit, par exemple, de monter entre lame et lamelle, dans une goutte d'eau, une minuscule pincée de la poussière verte qui recouvre l'écorce des arbres, ou de prélever une goutte de l'eau verdie d'un vase à fleurs, ou encore de celle d'une mare, pour voir, avec un grossissement de 200 à 300, de nombreux petits corps arrondis, transparents, contenant une cupule verte; il s'agit d'Algues vertes unicellulaires appartenant à la classe des Chlorophycées : *Pleurococcus viridis* des arbres verdis, *Chlorella vulgaris* de l'eau des vases, diverses espèces de *Chlamydomonas* de l'eau des mares, où l'on trouve d'ailleurs énormément d'autres Algues.

En raison de sa complexité cellulaire, le *Chlamydomonas* mérite d'être observé avec beaucoup plus d'attention. Tout d'abord, la membrane cellulosique qui l'entoure est ferme et épaisse; elle forme même, à la partie antérieure, une papille saillante facilement observable (caractère propre aux *Chlamydomonas* et à quelques genres voisins).

Le *protoplasme,* c'est-à-dire la substance transparente qui remplit la cellule, est presque totalement occupé par une masse verte en forme de coupe, épaisse au fond, mais amincie sur les bords à la partie antérieure; on y devine également la présence du noyau. La coupe verte est un *chloroplaste,* et c'est l'accumulation de nombreuses cellules, toutes pourvues d'un tel chloroplaste, qui donne à l'eau de mare sa teinte verte. Une petite macule rouge, ou *stigma,* est visible sur le bord antérieur du chloroplaste. Dans l'épaississement basal du chloroplaste, on peut observer une partie plus sombre, bordée de petits corps réfringents. Il s'agit d'un *pyrénoïde,* élément propre à certaines Algues et qu'on ne rencontre pas dans le reste du règne végétal. Les colorants vitaux ou semi-vitaux, cités à propos des cellules buccales, peuvent être utilisés pour mettre en évidence le cytoplasme et le noyau. De plus, l'eau iodo-iodurée, ou lugol, qui tue les cellules, colore en jaune-brun les constituants de nature protéique : cytoplasme, noyau, ainsi que la masse sombre du pyrénoïde; les petits corps réfringents qui entourent ce dernier ainsi que d'autres, dispersés dans tout le chloroplaste, se colorent en bleu-noir : cette coloration est spécifique de l'amidon; elle permet de repérer ce corps chimique dans la masse verte du chloroplaste, et sa localisation même donne une première indication, extrêmement précieuse, sur le fonctionnement et le rôle important de ce dernier.

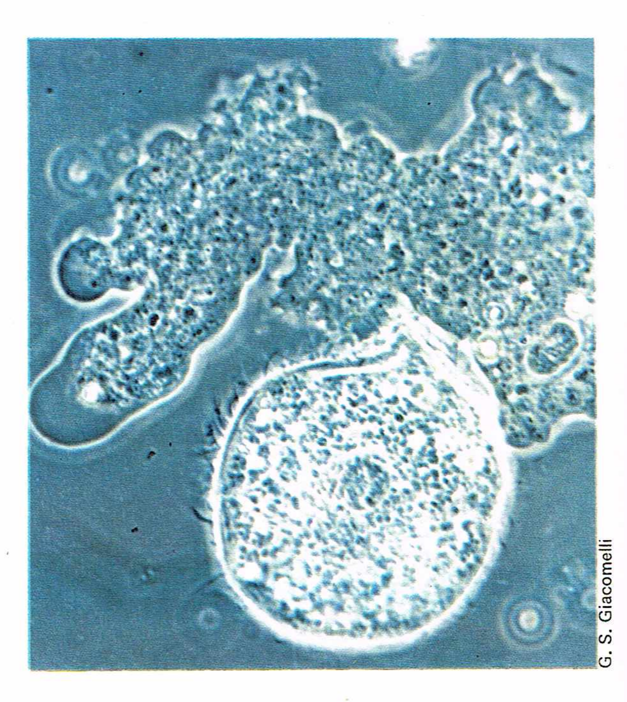
Mobilité des cellules vivantes

Le *Chlamydomonas* se déplace rapidement dans le minuscule aquarium que constitue la goutte d'eau coincée entre lame et lamelle; de même, beaucoup d'animalcules unicellulaires sont doués de mouvement.

Nous décrirons d'abord un exemple simple : il s'agit de l'amibe.

On trouve des amibes dans différents milieux liquides. Il en est de pathogènes, comme l'amibe dysentérique, mais heureusement, la plupart d'entre elles sont inoffensives pour l'homme. On en trouve, par exemple, dans les eaux douces plus ou moins polluées par des déchets organiques d'origine naturelle; on les voit fréquemment au printemps sur les feuilles des Mousses aquatiques *(Fontinalis antipyretica)* qui prospèrent sur les rochers, les murets immergés, et dans des mares où l'eau est cependant renouvelée; il en existe sur les débris qui gisent au fond des « mares à canards »; elles abondent également dans l'eau des parcs zoologiques où l'on maintient des tortues aquatiques.

Prenons simplement quelques fragments de Mousse du genre *Fontinalis* et plaçons-les entre lame et lamelle, dans une goutte d'eau; avec un grossissement d'environ 200, il est fréquent, après quelques minutes, de voir se déplacer de nombreuses amibes qui rampent sur la lame. Ces animaux, qui cherchent leur nourriture à la surface du verre comme ils la cherchaient sur les feuilles, se déplacent plus ou moins rapidement suivant l'espèce à laquelle ils appartiennent et suivant la température à laquelle on les observe. En gros, on peut dire que ces cellules ont un aspect assez peu différent de celui des cellules épithéliales buccales; mais elles sont extrêmement *déformables* et douées de *mouvement.* Précisons dès maintenant que de nombreuses cellules existant chez les animaux supérieurs sont également capables de se déplacer; leur mouvement est plus lent, mais il est de même nature; de telles cellules sont dites migratrices et jouent des rôles essentiels, en particulier pour l'élimination des Bactéries pathogènes; elles affluent en



G. S. Giacomelli

des points précis de l'organisme lors des réactions inflammatoires. En utilisant un grossissement plus fort (× 400), on voit aisément les grains et les organites contenus dans l'amibe ; ils sont groupés au centre de la cellule, alors que le cytoplasme, ou hyaloplasme périphérique, est parfaitement transparent. On constate par ailleurs que les éléments granuleux du cytoplasme sont mobiles et se déplacent de l'arrière vers l'avant lorsque l'animal rampe ; dans la partie la plus antérieure, on voit se former, de façon plus ou moins frappante suivant les espèces, des *voiles hyaloplasmiques*, parfois très larges ; dans d'autres cas, il apparaît seulement des prolongements, ou *pseudopodes*, lesquels peuvent être dus à un changement d'état physique du hyaloplasme suivant sa position par rapport au pôle antérieur de marche : le hyaloplasme axial, ou central, s'écoule sous forme de *sol* de l'arrière vers l'avant ; lorsque le sol atteint ce pôle, il s'écoule d'abord sur les côtés puis se *gélifie* superficiellement, tandis que les inclusions granuleuses demeurent dans une couche profonde.

La nature des forces qui sont mises en œuvre pour obtenir un tel mouvement est encore inconnue (Berkaloff, Bourguet, Favard et Guinnebault). Ainsi, dès ce stade de nos observations, nous constatons un phénomène qui, pour essentiel qu'il soit, n'a pas encore été compris. Retenons qu'outre la morphologie, la structure et la chimie de la cellule vivante, il est essentiel d'en connaître les propriétés physiques, propriétés qui varient considérablement suivant la nature de la cellule étudiée.

Un autre exemple de mobilité cellulaire nous est fourni par le règne végétal : il s'agit des Myxomycètes, Champignons inférieurs qui peuvent se déplacer à la façon des amibes ; en fait, ce ne sont pas des cellules proprement dites mais des *plasmodes*, masses protoplasmiques pourvues chacune de nombreux noyaux. On en trouve sur divers substrats : par exemple, sur des bois pourris ou des débris organiques épars sur le sol des forêts. Les plasmodes, bien visibles à l'œil nu, ont une consistance gélatineuse. Ils peuvent se reproduire en formant des spores uninucléées qui germent dans le film d'eau recouvrant les feuilles pourrissantes et les troncs morts : il en sort des spores nageuses, nues, pourvues de deux fouets inégaux. (Nous reviendrons sur leur mode de locomotion ; remarquons simplement que ces spores peuvent cesser de nager ; elles se déplacent alors à la façon d'une amibe [*Myxamoeba*]. Il est étonnant de constater que chez les végétaux, où les mouvements sont rares, une même espèce peut en présenter deux types différents.)

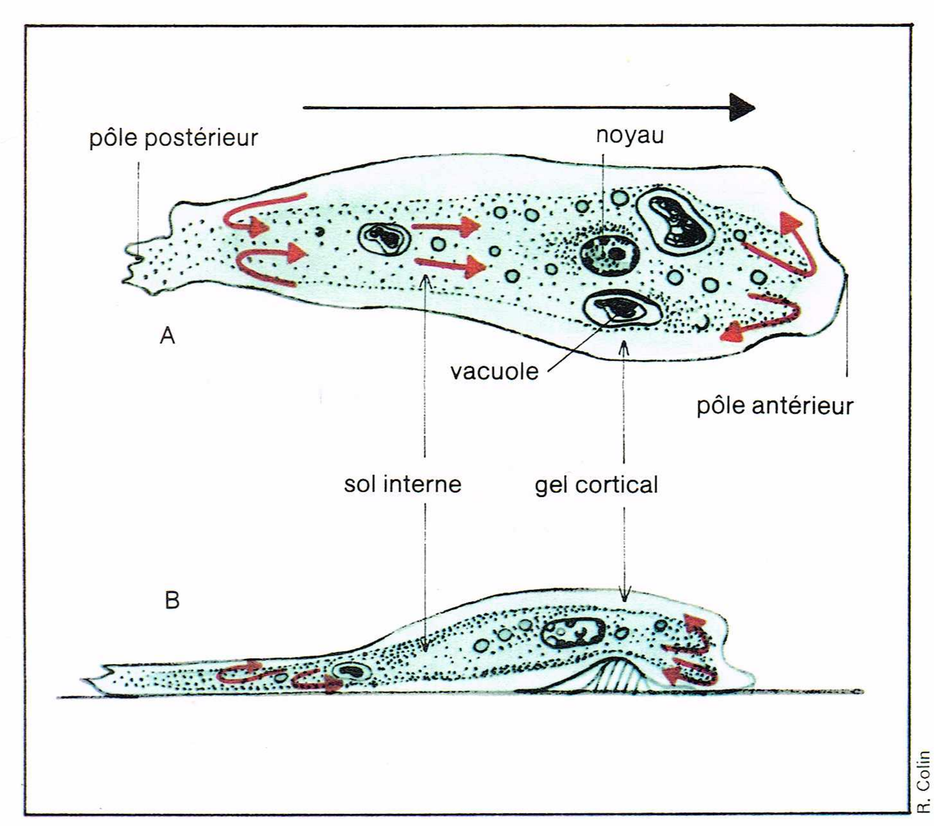
La mobilité cellulaire peut dépendre de l'existence d'*organites locomoteurs spécialisés* : les **cils** et les **flagelles**.

Nous prendrons comme exemple un type de Protozoaire extrêmement commun, dont le hyaloplasme est recouvert d'une toison de *cils* très denses : la paramécie. Cet animal n'est pas rare dans les milieux où l'on trouve des amibes ; il prolifère sur les feuilles en décomposition qui tapissent le fond des mares.

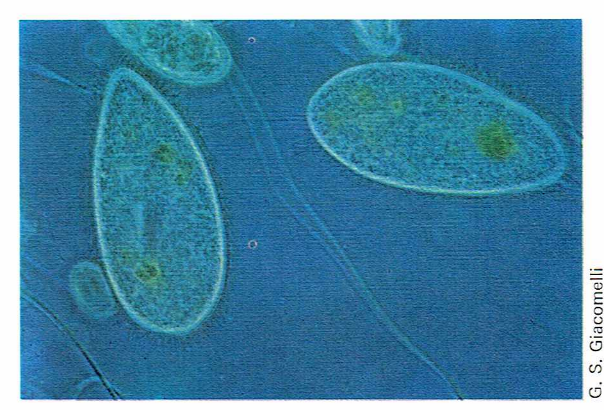
En fait, n'importe quel autre Cilié pourrait être pris comme exemple ; l'avantage des paramécies vient de leur taille relativement importante (150-200 μ), ce qui permet une observation facile au microscope. Les cils fins qui les recouvrent sont disposés en rangées parallèles ; ce sont leurs battements coordonnés qui permettent le déplacement de l'animal, lequel peut nager très rapidement. Une observation patiente permet de constater que l'animal possède une orientation, une polarité antéropostérieure fixe, ce qui n'est pas le cas des amibes, dont le pôle antérieur n'est nullement déterminé de façon définitive. Notre Cilié possède une bouche toujours largement ouverte et située au tiers antérieur. De nombreuses rangées de cils convergent vers cet orifice, ou *cytostome*, qui se prolonge dans le corps de l'animal par un *cytopharynx* (dont nous verrons un peu plus loin l'importance). Si nous laissons sécher, sur une lame de verre, la goutte d'eau contenant les paramécies, celles-ci meurent sans perdre leur aspect caractéristique ; on peut alors fixer les animaux en plongeant rapidement la lame dans l'alcool ou dans l'éther ; sous l'objectif du microscope, on voit alors parfaitement les rangées de cils, et on constate qu'il existe à leur racine une petite granulation très réfringente : le *corpuscule basal ;* celui-ci est une sorte de « relais nerveux » qui permet les mouvements ciliaires coordonnés ; un traitement particulier des paramécies permettrait de mettre en évidence un réseau fibrillaire qui relie les très nombreux corpuscules basaux ; on utilise pour cela une technique d'imprégnation par un sel d'argent qui révèle la présence du réseau.

Cette description, extrêmement brève, de la structure d'un Cilié permet d'avoir une idée de la complexité de ces êtres unicellulaires doués de mouvement. Le mécanisme moteur fera l'objet d'une analyse ultérieure ; remarquons simplement ici que de telles cellules ne diffèrent pas considérablement de celles que l'on trouve dans les tissus et les organes de la plupart des êtres pluricellulaires : en effet, il existe des cellules ciliées dans l'épithélium qui tapisse de nombreuses cavités de l'organisme. Citons, par exemple, les cellules ciliées des bronches ou celles de l'œsophage de certains Vertébrés. Bien sûr, la ciliature n'implique pas ici un mouvement cellulaire : elle provoque le déplacement des fluides qui la baignent ; cependant, il faut souligner le fait que le mécanisme qui entraîne la mobilité de la paramécie est de même nature que celui qui permet les battements ciliaires des branchies de la moule ou de l'épithélium tapissant les cavités de nos sinus.

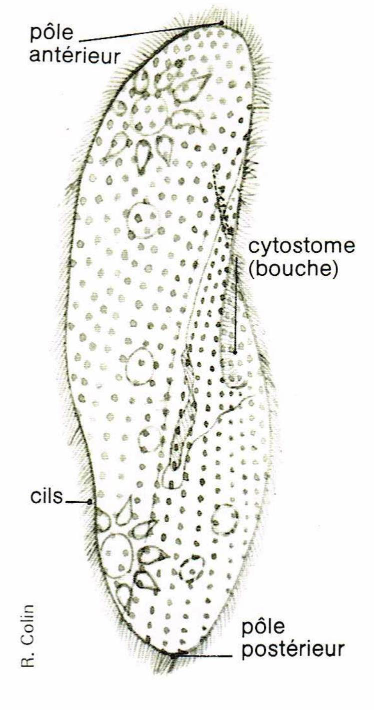
Parmi les Unicellulaires, on trouve aussi des animaux et des végétaux qui sont pourvus de *flagelles*, comme nous l'avons vu, précédemment, à propos des spores de Myxomycètes ; d'autres végétaux, surtout des Algues comme le *Chlamydomonas* cité plus haut, se déplacent grâce à des flagelles placés à la partie antérieure de la



▲ ***Locomotion d'une amibe sur un substrat. A, vue de dessus ; B, vue latérale. Les flèches rouges indiquent le sens du déplacement des éléments du cytoplasme.***


G. S. Giacomelli

▼ ***Disposition schématique de la ciliature d'une paramécie en vue latérale. Les lignes de points correspondent à l'insertion de cils.***



▶ *Schéma des modes de nutrition et d'excrétion d'une paramécie. 1, membrane ondulante qui attire les éléments nutritifs en suspension dans l'eau; 2, vacuole digestive en formation* (endocytose); *3, migration des vacuoles digestives; 4, expulsion des déchets insolubles par un anus* (exocytose); *5, expulsion des déchets solubles par contraction de la vacuole pulsatile.*

▶ *Page ci-contre, en haut, phénomène de macrophagie observé au niveau d'une lésion pulmonaire, grâce à la microscopie électronique (× 5 000); 1, lumière d'un capillaire sanguin; 2, endothélium du capillaire; 3, cavité alvéolaire contenant des cellules sanguines; 4, épithélium de l'alvéole et tissu conjonctif; 5, globules rouges; 6, cellule migratrice; 7, cellule macrophage; 8, noyaux; 9, éléments phagocytés; 10, pseudopodes. En bas, schéma de cellule végétale montrant les échanges les plus frappants qui se réalisent à travers la membrane et le squelette cellulosique.*

▼ Trypanosoma gambiense *est un Protozoaire parasite, se déplaçant dans le sang grâce à un long flagelle d'un type un peu particulier (la base constitue une sorte de membrane ondulante).*



Nuridsany - Reichert

cellule; l'ondulation flagellaire, dont le mécanisme peut être rapproché de celui des cils, permet la traction de la cellule.

Dans d'autres cas, le ou les flagelles se trouvent à l'extrémité postérieure : la cellule est alors poussée, et le mouvement rappelle celui d'un têtard. Les spermatozoïdes de beaucoup d'animaux et les anthérozoïdes des végétaux, cellules reproductrices mâles, se déplacent grâce à des flagelles (cas de nombreuses Algues, de Champignons, de Mousses et de Fougères). Là encore, on peut dire que les cellules flagellées méritent une étude attentive; ainsi, dans le cas de la maladie du sommeil, les cellules des trypanosomes qui parasitent le sang de l'homme se déplacent grâce à un flagelle.

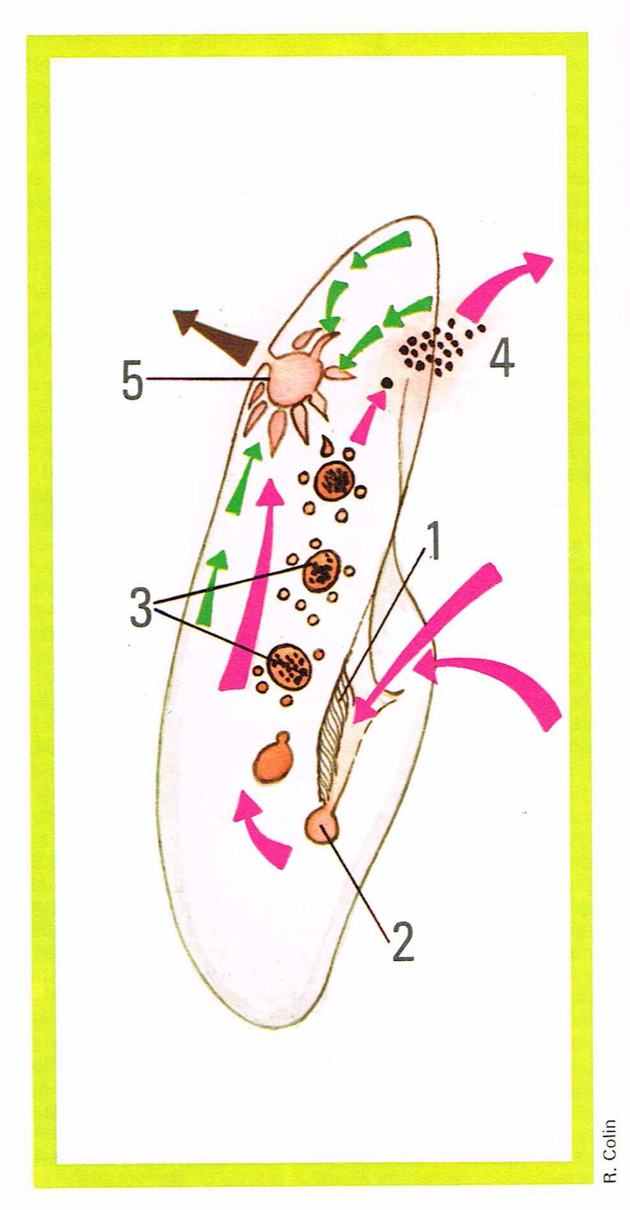
Les échanges chimiques avec le milieu extérieur

La cellule *absorbe* et *excrète;* dans certains cas, cela peut se voir à l'aide du microscope. Reprenons, pour étudier ces phénomènes, l'exemple des Protozoaires et de leurs homologues végétaux.

Chez les amibes ou les Ciliés, on peut facilement déceler l'existence de *vacuoles* dans le hyaloplasme; ces cavités jouent un rôle essentiel dans la nutrition et l'élimination des déchets de la digestion. Les vacuoles digestives peuvent être distinguées sans coloration, mais elles deviennent beaucoup plus visibles si l'on utilise le rouge neutre, colorant vital à faible concentration. Les Protozoaires, placés entre lame et lamelle dans la solution colorante extrêmement diluée, vont absorber les particules organiques nécessaires à leur nourriture et avaler en même temps une certaine quantité de rouge neutre. Ainsi, chez la paramécie, au fond du goulet du cytopharynx, la membrane cytoplasmique se déprime périodiquement, s'invagine et finit par délimiter une cavité sphérique dans laquelle les aliments et le colorant sont drainés; ensuite, celle-ci s'isole et s'enfonce dans le hyaloplasme : la vacuole est entraînée par un *courant de cyclose* que l'on peut rapprocher du courant permettant le déplacement de l'amibe. Durant cette migration, les substances nutritives sont entraînées dans le cytoplasme qui entoure la vacuole. Le rouge neutre demeure dans le liquide vacuolaire, ce qui permet ainsi de suivre la migration des vésicules digestives : elles restent plus ou moins alignées, formant un chapelet tout au long de l'animal; à la fin de la digestion, chaque vacuole vient s'accoler à la membrane plasmique au voisinage du pôle antérieur de la paramécie; elle ne contient plus que des produits de déchets, qui sont expulsés suivant un processus inverse de celui de l'absorption de la nourriture au fond du cytopharynx. Cette absorption est une *endocytose* et l'excrétion des éléments indigestes est appelée une *exocytose*.

Les vacuoles sont bien observables chez de très nombreux Protozoaires, en particulier chez les Ciliés du groupe des vorticelles; ces animaux possèdent un pédoncule et restent fixés sur le substrat, ce qui facilite l'observation microscopique; les paramécies offrent, en effet, l'avantage d'être souvent de grande taille, mais il faut avouer qu'elles sont bien remuantes! On tourne la difficulté en les emprisonnant dans des fibres végétales dilacérées ou, plus efficacement, en augmentant la viscosité du liquide; on utilise pour cela un gel d'agar dans lequel nos Ciliés nagent avec beaucoup de lenteur sans pour cela perdre leurs fonctions normales.

La *phagocytose* est une forme d'endocytose fréquente chez les organismes pluricellulaires. Citons, en particulier, le cas de certains globules blancs qui, dans le sang et les tissus, absorbent les Bactéries et les cellules mortes plus ou moins fragmentées (macrophagie). Beaucoup de cellules peuvent absorber un volume de liquide plus ou moins important et, par conséquent, les substances dissoutes ou en suspension : c'est ce qu'on appelle un phénomène de *pinocytose*. Celle-ci a pu être mise en évidence grâce à la microcinématographie en contraste de phase et en utilisant des cellules sanguines migratrices. L'absorption de gouttelettes aqueuses a été constatée dans beaucoup d'autres types cellulaires; c'est le cas, par exemple, des cellules de l'épithélium pulmonaire. Au microscope électronique, on peut voir sur des coupes ultra-fines que chaque cellule absorbe un très grand nombre de fines gouttelettes.



R. Colin

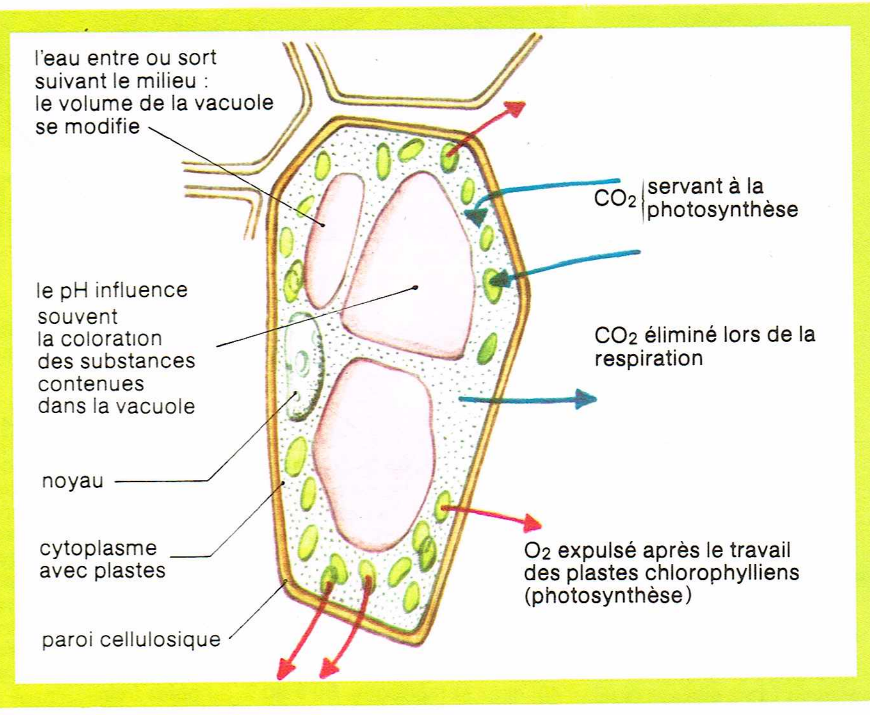
Nous avons décrit un exemple d'échange entre le milieu extérieur et la cellule. La première étape, c'est-à-dire la formation de la vésicule digestive, est très facile à observer, de même que l'étape finale qui aboutit à l'expulsion des déchets. Mais il se passe bien autre chose au sein de la cellule : *l'essentiel des échanges vitaux se fait à travers la membrane plasmique.* Dans le cas des Protozoaires, un rôle prépondérant est dévolu aux membranes des vacuoles, mais, pour l'ensemble des cellules vivantes, les transferts nutritifs et excréteurs se font à travers toute la paroi de la cellule ou du moins à travers de grandes surfaces membranaires.

Les échanges concernent aussi bien les gaz que les liquides et les sels dissous, et nous verrons également que des molécules organiques traversent la membrane.

Dans le cas des cellules végétales, nous n'avons guère l'occasion d'observer des phénomènes de phagocytose; il est cependant possible de constater l'existence d'échanges de nature chimique; ils doivent se faire à travers la paroi cellulosique, squelette propre aux végétaux. Celle-ci est doublée intérieurement par la membrane cytoplasmique : ainsi, si une vacuole excrétrice crève à la surface du cytoplasme, son contenu reste entre cette dernière et la paroi cellulosique. Les végétaux n'empruntent pas leur nourriture organique (proie, fragment végétal ou animal) au milieu extérieur : ils la fabriquent en utilisant les sels dissous et les gaz, libres ou dissous dans ce milieu. Ainsi, la vacuole que l'on trouve chez le *Chlamydomonas* peut devenir lentement rose en présence d'une solution de rouge neutre. Un fragment d'épiderme de bégonia révèle à l'observation microscopique

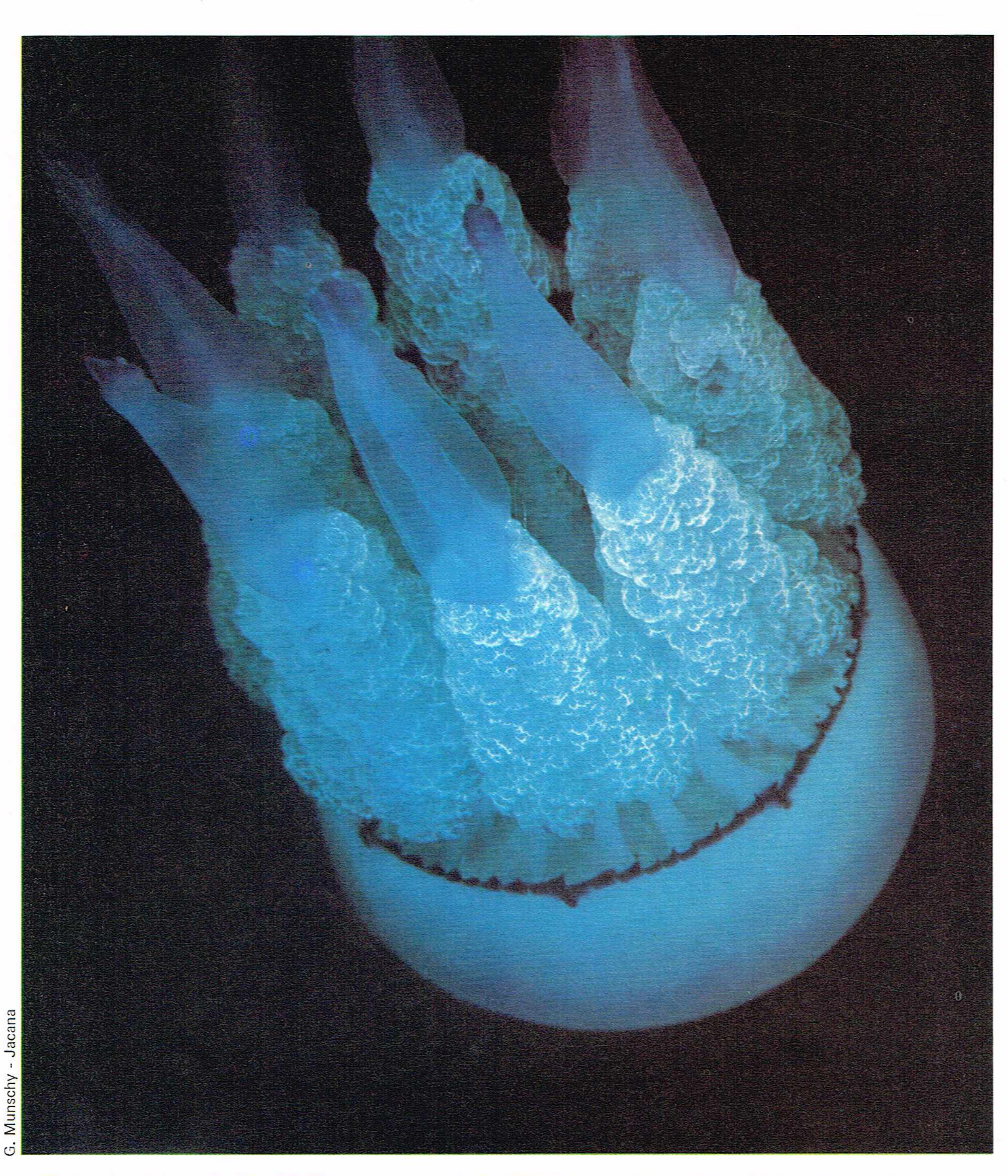
C. Bouchard

des vacuoles fortement colorées en mauve par des pigments anthocyaniques occupant presque la totalité des cellules épidermiques ; si ce fragment est monté entre lame et lamelle dans une goutte d'acide dilué, le liquide vacuolaire vire au rouge, ce qui prouve que l'acide pénètre dans la cellule ; par ailleurs, un lambeau identique, monté dans une goutte de solution alcaline, devient bleu. Dans les deux cas, il y a eu pénétration de substances chimiques du milieu extérieur dans la vacuole, les anthocyanes jouant le rôle de réactif. Ce phénomène peut même s'observer sans microscope en plongeant deux feuilles de chou rouge dans une solution acide ou basique. La pinocytose, absorption de gouttelettes liquides par le cytoplasme, est très peu répandue chez les végétaux. La diffusion des gaz peut être mise en évidence par une expérience relativement simple : l'action ménagée de l'hydrosulfite de sodium sur le bleu de méthylène provoque la réduction de ce dernier et sa transformation en un leuco-dérivé, incolore comme son nom l'indique ; des Algues vertes, par exemple des *spirogyres,* longs rubans de cellules mises bout à bout, immergées dans une solution de ce leuco-dérivé, et exposées à la lumière, vont induire la réaction inverse, c'est-à-dire la transformation du leuco-dérivé en bleu de méthylène. Or celle-ci n'est possible qu'en présence d'oxygène. Un gaz, l'oxygène, a donc diffusé de l'intérieur des cellules vers le milieu extérieur, le bleu de méthylène jouant le rôle de réactif que jouait l'anthocyane dans le cas du bégonia. Cette émission est d'une importance essentielle, puisque tout l'oxygène que nous respirons vient des végétaux verts.



R. Colin

► *L'eau, constituant très important de tous les organismes vivants, représente 98% de la masse corporelle d'animaux marins planctoniques, tels que cette méduse (Cnidaires).*



G. Munschy - Jacana

LES PRINCIPAUX CONSTITUANTS CHIMIQUES DE LA CELLULE VIVANTE

L'eau

Dans l'Antiquité, pour les disciples d'Épicure, voués au culte d'Aphrodite, l'eau représentait l'élément fondamental, source de toute vie.

L'eau est un constituant dominant de tous les organismes vivants : elle représente 63 % de la masse corporelle de l'homme et 98 % de celle des animaux marins, planctoniques, tels que les méduses, dont la consistance molle est bien connue. A l'inverse, l'eau est peu abondante dans le cas des organismes en vie ralentie : ainsi, les graines n'en contiennent que 10 % en moyenne; dans le règne animal, on constate le même phénomène chez les Crustacés Phyllopodes des mares temporaires, les Tardigrades et les Protozoaires Thécamibiens des Mousses. Remarquons enfin que, dans l'ensemble, la teneur en eau des végétaux est plus élevée que celle des animaux et représente 80 à 90 % du poids frais.

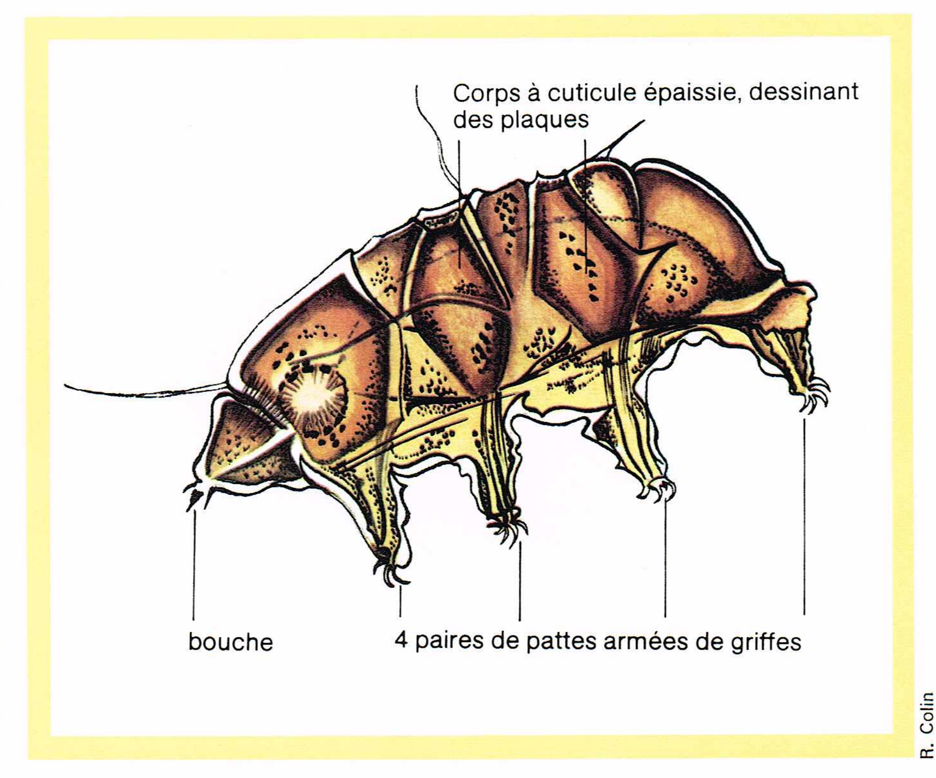
Pour chaque individu, la quantité d'eau diminue quand l'âge augmente. Cependant, la teneur en eau d'un organisme ne peut varier qu'entre des limites étroites, cela est surtout vrai chez les animaux; on estime qu'une déshydratation d'environ 10 % provoque la mort, chez les Mammifères; chez le nouveau-né, les mécanismes de régulation du métabolisme hydrique n'étant pas encore bien établis, la déshydratation peut avoir des conséquences catastrophiques bien en deçà du seuil de 10 %.

Les végétaux sont plus souples : chez la luzerne par exemple, le point de flétrissement irréversible est atteint pour un déficit en eau de 70 %; cependant la plupart des plantes s'installent dans un milieu dont la teneur en eau correspond à un optimum qui varie suivant chaque espèce; dans des cas extrêmes, les végétaux peuvent être alors aquatiques ou semi-aquatiques (par exemple, les plantes de haute montagne ou des forêts ombrophiles).

La molécule d'eau : propriétés physico-chimiques

La molécule d'eau, apparemment simple, est en fait très particulière. Les trois atomes (2 H et 1 O) qui la constituent sont placés aux sommets d'un triangle isocèle de proportions fixes.

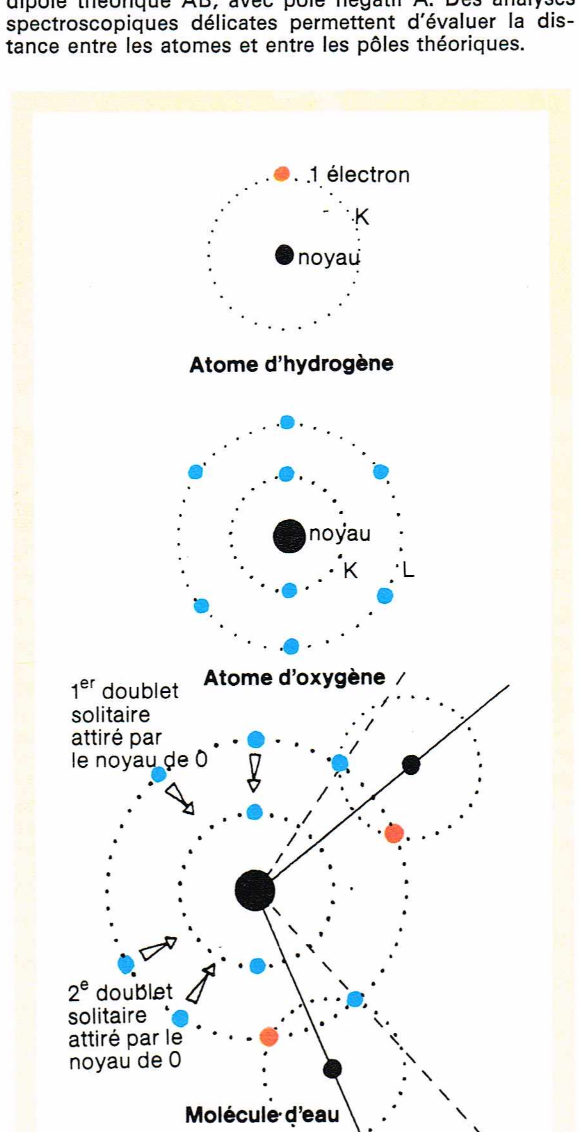
L'*oxygène,* de nombre atomique 8, comporte deux couches d'électrons : la couche K, proche du noyau positif, est saturée à 2 électrons; la couche L, plus éloignée, en comporte 6 alors qu'il en faut 2 + 6, soit 8, pour qu'elle soit saturée. En présence d'atomes d'hydrogène, l'atome d'oxygène se lie à *deux hydrogènes* par des liaisons de *covalence :* H et O mettent en commun 2 électrons, l'un de H, l'autre de O ; comme 2 H se lient à O de la même manière, par covalence, l'octet de O est saturé, tout comme le doublet des H. Il reste autour de O deux « doublets solitaires », qui se trouvent particulièrement attirés par les 8 protons de O. Ces 4 électrons négatifs se rapprochent du noyau électropositif et s'éloignent des noyaux H. En conséquence, l'oxygène va constituer un *pôle négatif* pour la molécule d'eau, alors que les pôles hydrogène deviennent *positifs,* relativement. La molécule d'eau est donc un *dipôle permanent.* Les molécules, dipolaires, s'orientent sous l'action d'un champ électrique et tendent à neutraliser ce champ. Une telle molécule dipolaire ne peut pas avoir une disposition simple; c'est pourquoi on a envisagé l'existence d'une structure triangulaire (Bernal et Fowler). L'angle HOH serait de 109° ; les deux dipôles OH correspondraient à un dipôle théorique AB, avec pôle négatif A. Des analyses spectroscopiques délicates permettent d'évaluer la distance entre les atomes et entre les pôles théoriques.



▲ **Echiniscus trisetosus** *est un Tardigrade commun dans les Mousses; les Tardigrades sont doués du pouvoir d'anabiose : en cas de sécheresse prolongée, ils peuvent se déshydrater sans dommage; la réhydratation entraîne le retour à la vie active.*

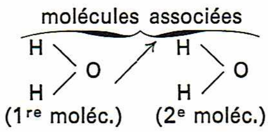
R. Colin

◀ *Structure tétracoordinée des molécules d'eau : en rouge, localisation de l'oxygène de la molécule d'eau centrale; en vert, oxygène des molécules associées.*

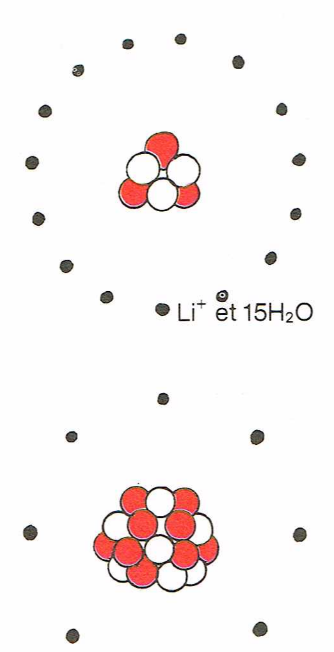


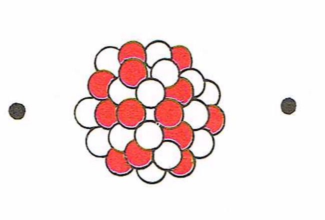
◀ *Représentation schématique des atomes d'hydrogène et d'oxygène et de la molécule d'eau. Un atome d'oxygène et deux atomes d'hydrogène s'associent pour saturer la couche K de l'hydrogène et la couche L de l'oxygène.*

Mais la molécule d'eau n'est pas libre : elle contracte avec d'autres molécules d'eau des *liaisons hydrogène.* Dans la molécule, H, lié à O, peut jouer le rôle d'accepteur d'électrons vis-à-vis d'une autre molécule. Dans l'eau pure, c'est l'oxygène d'une molécule voisine qui fournit 2 électrons supplémentaires à H. On a :



Cette *liaison hydrogène* (→) est de type *coordinence* (O fournit les 2 électrons mis en commun avec H). C'est une liaison faible, donc labile; elle est cependant d'une solidité supérieure à celles qui sont dues aux forces de Van der Waals (attraction complexe, bien qu'universelle, des particules neutres qui, pour entrer en contact, doivent être initialement extrêmement proches : l'attraction diminue en raison inverse de la 7e puissance de l'écart; pour les particules électroactives, l'attraction diminue seulement en raison inverse du carré de l'écart).





K^+ et $4H_2O$

▲ **Schéma de l'hydratation ou solvatation des ions.**

L'association des molécules donne généralement naissance à une *supermolécule* faite de 5 H_2O disposées de manière précise les unes par rapport aux autres. Dans l'eau liquide, on a donc une structure à courte distance bien définie : 1 molécule d'eau est entourée par une couronne de 4 autres molécules. Mais l'association va plus loin puisqu'il existe une seconde couronne qui en comporte 12... En fait, lorsque la température s'abaisse, les molécules tendent à se souder par des liaisons hydrogène; si l'agitation thermique est encore réduite, les groupements moléculaires tendent à constituer un édifice cristallin qui devient stable à 0 °C : il s'agit de la *glace*. Inversement, si l'on réchauffe la glace, l'édifice cristallin se désagrège, puis les couronnes se dissocient. En règle générale, les groupements atomiques sont d'autant plus nombreux que la température est plus basse; l'association d'une molécule avec d'autres est perpétuellement remise en cause par l'agitation thermique.

Notons qu'il existe plusieurs types d'eau liquide que l'on peut distinguer grâce à une technique d'analyse aux rayons X : il est possible de trouver trois types, plus ou moins compacts; *l'eau I* est une association de 1 molécule avec 4 autres molécules distantes de 2,8 Å (0,000 28 μ) qui, elles-mêmes, sont liées à 12 molécules distantes de 4,5 Å; dans *l'eau II*, plus dense, les 12 molécules périphériques sont à 4,2 Å; enfin, *l'eau III* comporte des molécules encore plus serrées. Pour une température donnée, l'une des trois variétés domine; cela explique les variations de densité de l'eau.

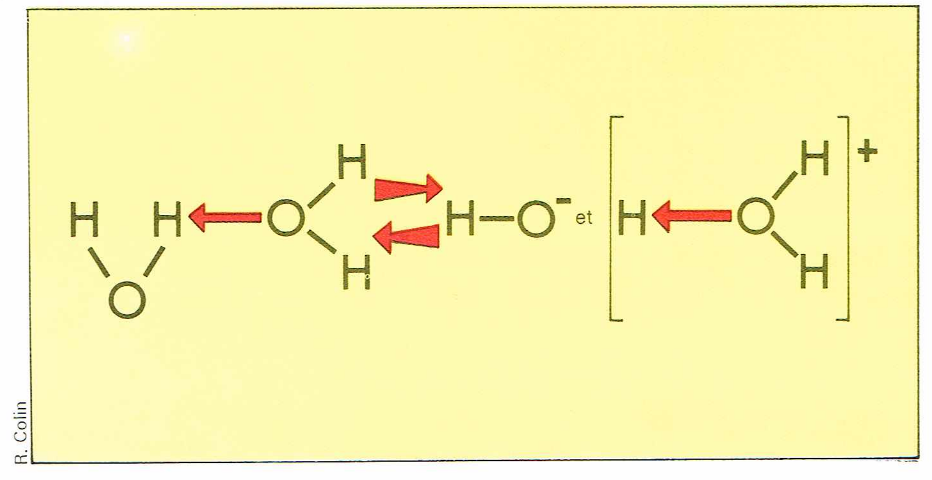
Cette brève description a été donnée pour que l'on puisse juger de la complexité des éléments qui paraissent les plus simples.

L'eau ordinaire est, de plus, un liquide partiellement ionisé.

Dans l'eau pure, il y a *dissociation ionique* d'une partie des molécules; en fait, la proportion des molécules d'eau ionisées est très faible. Cette dissociation intramoléculaire est un *phénomène dynamique :* dans un temps donné, *n* molécules se dissocient et, simultanément, *n* autres molécules se reconstituent à partir des ions préexistants. Schématiquement, tout se passe comme si l'on avait une simple ionisation de H_2O en ions H^+ et OH^-; les concentrations de ces ions sont égales à 10^{-7} équivalent g/l; ce chiffre peut être obtenu expérimentalement (détermination de la *constante de dissociation K* — loi d'action de masse).

L'eau est un milieu neutre; dans la pratique, on dit qu'elle a un pH de 7 (pH est le logarithme décimal négatif de la concentration en ions H^+). On utilise la même notation pour déterminer l'acidité (pH < 7) d'une solution ou son alcalinité (pH > 7).

Grâce à la structure de sa molécule, l'eau est un excellent *solvant* polaire pour les substances minérales dissociables en ions, ainsi que pour diverses molécules organiques à *radicaux hydrophiles* (—COOH ; C=O ; —OH ; —NH_2) ; ces radicaux ont eux-mêmes un caractère polaire très notable, si bien que la région polaire d'une molécule organique se trouve toujours orientée vers l'eau, qui compose une partie de la substance cellulaire. Ce point est d'une extrême importance pour la constitution des membranes cellulaires.



▲▶ **Ci-dessus, schéma du principe d'ionisation de l'eau. A droite, un pH-mètre.**

L'eau *favorise la dissociation ionique* des sels d'acides et de bases faibles (les sels d'acides forts et de bases fortes s'ionisent avant leur dissolution). Par ailleurs, les molécules d'eau polarisées se groupent autour des ions formés : c'est la *solvatation,* ou *hydratation des ions;* lors des expériences d'électrolyse, les ions migrent vers une électrode *en entraînant un cortège de molécules d'eau.* Dans la cellule également, un ion Li^+ (lithium), par exemple, entraîne en moyenne 15 molécules d'eau; 8 molécules forment une couronne autour de l'ion Na^+; il n'y en a que 4 autour de K^+, car cet ion est sensiblement plus gros que les précédents et le champ est moins important. Volumineux, les ions solvatés traversent plus difficilement les membranes que s'ils étaient seuls. De plus, il faut souligner l'importance de l'hydratation pour

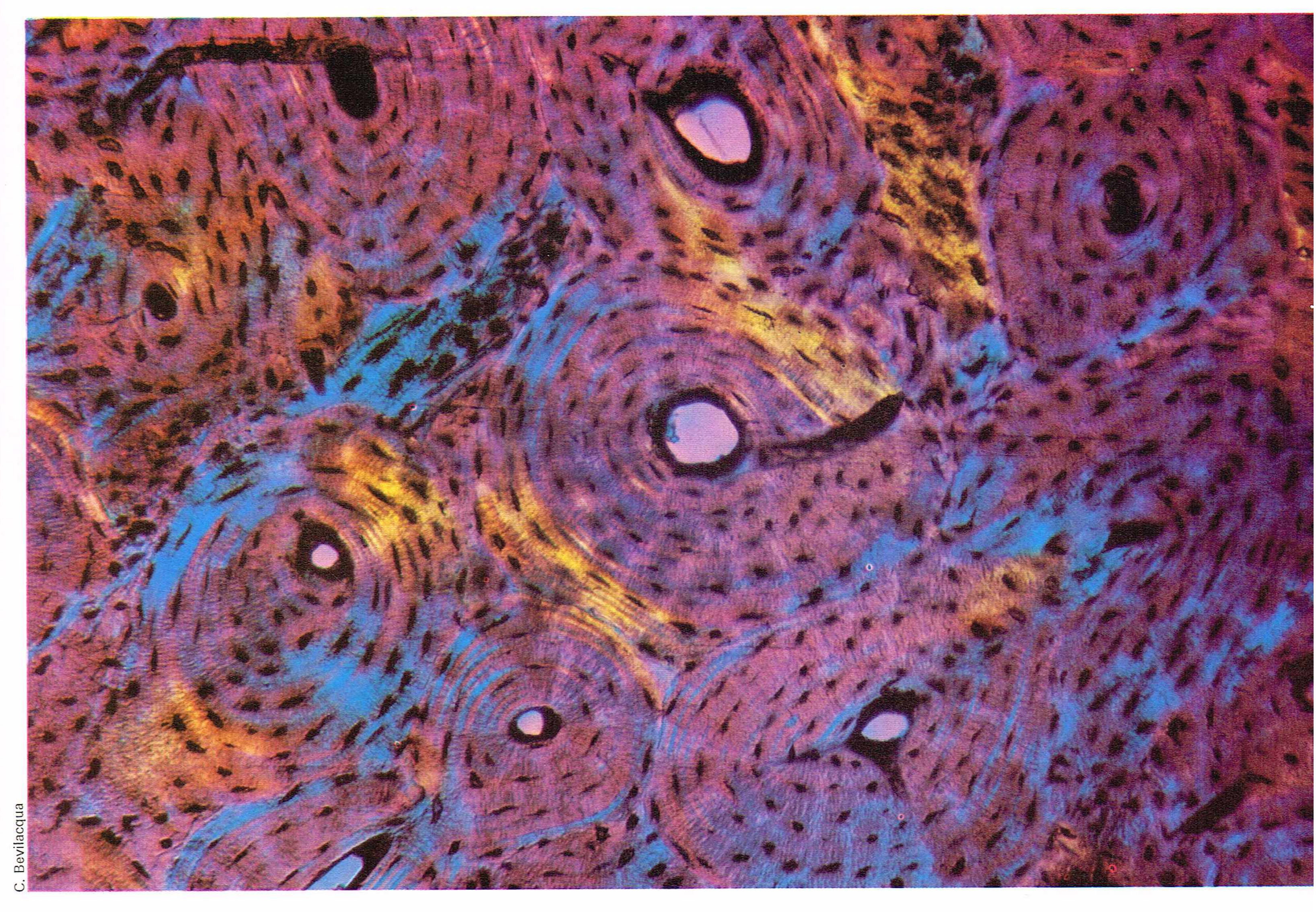


les grosses molécules protéiques : une molécule protéique comporte généralement de nombreux radicaux chargés, qui, en s'attirant, provoqueraient une déformation préjudiciable à son bon fonctionnement : en s'installant autour de ces radicaux, une couche d'eau bipolarisée réduit les forces d'attraction et protège la molécule, donc son activité biologique.

Certaines autres propriétés de l'eau sont remarquables. Sa *tension superficielle* est élevée (73 dyn/cm à 18 °C) ; elle résulte de la forte attraction mutuelle des molécules (forces de Van der Waals). Une substance dissoute ne se répartit donc pas uniformément dans le solvant : elle s'accumule au contact de la couche de séparation (eau/air ou eau/lipides) lorsqu'elle abaisse la tension superficielle, et, inversement, elle s'y trouve moins abondante si elle élève cette tension. D'autre part, de la tension superficielle dépendent tous les mouvements cellulaires.

La *chaleur spécifique* de l'eau atteint une valeur élevée, deux à trois fois plus grande que celle des autres constituants biologiques : il faut 1 calorie pour faire passer 1 g d'eau de 14,5 °C à 15,5 °C, ce qui est très important. L'eau est donc un facteur de régulation thermique chez les végétaux et surtout chez les animaux. Parallèlement, lorsque la température augmente, la perte de poids par évaporation est faible.

Enfin, dans la nature, on constate parfois un phénomène de *surfusion* de l'eau : cela explique, avec d'autres facteurs, le maintien en vie à de très basses températures d'organes végétaux tels que les bulbes. Par contre, la plupart du temps, lorsque l'eau gèle, son augmentation de volume provoque des lésions dans les tissus, qu'ils soient animaux (par exemple, les doigts ou nez gelés) ou végétaux (ainsi, les chrysanthèmes, les dahlias ou les géraniums deviennent noirs après les premières gelées).


C. Bevilacqua

▲ *Les éléments minéraux sont des constituants de toutes les cellules; autour des cellules, ils peuvent former l'essentiel des structures squelettiques; ici, une coupe transversale d'os vue au microscope à lumière polarisée.*

Les éléments minéraux

Les éléments minéraux sont des constituants de toutes les cellules vivantes; ils s'y trouvent le plus souvent sous forme dissoute, ce qui implique leur ionisation partielle, mais ils peuvent aussi constituer l'essentiel des structures squelettiques (os des Vertébrés, tests des Foraminifères et des Diatomées, etc.).

Abondance et importance des sels minéraux

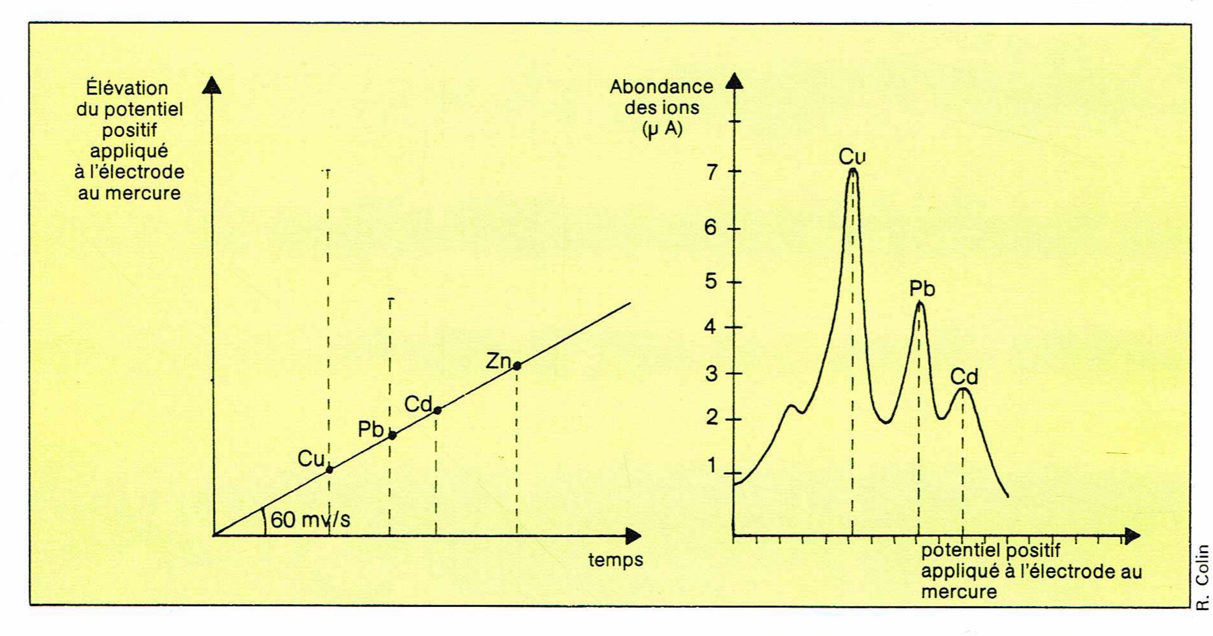
L'analyse qualitative permet de trouver dans les organismes vivants des *cations,* parmi lesquels le sodium Na^{+}, le potassium K^{+}, le calcium Ca^{++}, le magnésium Mg^{++} et le lithium Li^{+}, ainsi que des *anions* tels que le chlore Cl^{-}, le sulfate SO_4^{--}, le carbonate CO_3^{--}, le nitrate NO_3^{-}, le phosphate HPO_4^{--}. Quatre métaux sont en liaison étroite avec diverses molécules organiques : le fer Fe, le cuivre Cu, le cobalt Co et le molybdène Mo. Le vanadium Vd, le cadmium Cd et le chrome Cr existent aussi chez certains êtres vivants. Il existe, en outre, de nombreux oligo-éléments qui seraient particulièrement importants chez les végétaux : le zinc Zn, le manganèse Mn, l'aluminium Al, le nickel Ni, le bore B, l'iode I, le fluor F, le brome Br, etc.

Dans un extrait tissulaire, il est possible de détecter certains cations grâce à une technique moderne d'analyse par *redissolution anodique :* les ions métalliques de l'échantillon sont d'abord attirés sur une cathode; ensuite, on pratique une électrolyse inverse qui redissout les métaux de manière séquentielle; durant cette phase, la redissolution (oxydation) produit des courants électriques mesurables; on obtient une succession de pics correspondant à chacun des cations redissous. Le dosage des traces métalliques est alors possible. (C'est ainsi qu'on détermine le degré de pollution des eaux en mercure, Hg, ou qu'on recherche des cations essentiels pour la cellule.)

Dans la cellule, les éléments les plus abondants peuvent être détectés par examen microscopique. Durant plusieurs années, on a utilisé la technique de *micro-incinération,* dont le principe est très simple : des coupes de tissus étalées sur des lames peuvent être calcinées dans des fours de conception particulière, puis observées ensuite au microscope, après stabilisation des cendres; or, les cendres de sodium, de calcium ou de potassium n'ont pas la même allure, la même « couleur », ce qui permet aux spécialistes de localiser, souvent précisément, les éléments minéraux principaux de la cellule. Cette technique était assez souvent employée il y a quinze ou vingt ans. Mais, depuis quelque temps, on utilise un système analyseur électronique, la sonde de Castaing, qui permet de détecter la présence d'un élément au niveau des constituants de la cellule et qui donne une idée assez précise de la concentration de cet élément.

On sait depuis longtemps que la bonne marche des processus vitaux dépend, dans des limites étroites, des *concentrations* des différents ions. De plus, il existe une *balance ionique* tissulaire : les proportions des différents ions doivent être des paramètres fixes; elles varient plus ou moins selon les espèces, mais on peut faire un certain nombre de constatations générales : K^{+} est 30 à 40 fois moins abondant que Na^{+}; il y a 5 à 7 fois moins de SO_4^{--} que de Cl^{-}, etc.

Loeb a mis en évidence l'existence d'*antagonismes* entre certains ions : l'adjonction d'*un* sel au milieu dans lequel se développe l'œuf de *Fundulus* (Poisson osseux)



▶ *A gauche, enregistrement du potentiel nécessaire pour la redissolution anodique de quelques éléments métalliques. A droite, mesure du taux du cuivre, du plomb et du cadmium dans un échantillon de sang (0,1 ml dissous dans 5 ml de solution d'acétate de sodium). Ces ions s'y trouvent à l'état de trace.*

R. Colin

provoque la mort de cet œuf; curieusement, celui-ci se développe normalement en présence de *deux* sels donnant des ions métalliques, monovalents d'une part, et bi- ou trivalents d'autre part. Une expérience d'un autre type peut être faite avec un cœur de grenouille ou de tortue; un cœur isolé continue de battre, mais peut être bloqué en diastole (phase de décontraction) lorsqu'on le met en présence de Na^+ ou K^+; son blocage est systolique avec Ca^{++}. Plus récemment, on a constaté que K^+ diminue la viscosité du cytoplasme, alors que Ca^{++} l'augmente. Chez les plantes, un excès de potassium empêche ou retarde le flétrissement, à l'inverse du calcium.

Le tableau donné ci-dessous, emprunté à Loewy et Siekevitz, indique les proportions des principaux ions chez divers types d'animaux. Or, il existe une certaine similitude entre les proportions de ces ions dans l'eau de mer et dans les tissus animaux, ce qui peut sembler étonnant, puisque la vie animale évolue depuis 1,6 milliard d'années (sans compter l'évolution végétale, qui se poursuivrait depuis 3 milliards d'années). Sur un plan expérimental pratique, on utilise depuis longtemps des *solutions nutritives balancées* pour la culture de végétaux entiers ou fragmentés ou pour celle de cellules animales qui peuvent survivre et se multiplier; on parvient ainsi à obtenir *in vitro* des tissus ou des organes. Ces solutions ont une composition proche de celle des liquides physiologiques (Ringer, Locke, Tyrode, Trowell, Wolff et coll., etc.). Enfin, il faut souligner « l'unité, sinon de composition, au moins de besoins en ions, de formes vivantes aussi différentes qu'une cellule hépatique et qu'une cellule de bulbe d'oignon » (Durand).

zone étudiée A
n m c e
B
40
taux de potassium
e c m n
A B
Déplacement du faisceau d'électrons suivant l'axe AB

▶ *Structure schématique d'un ganglion nerveux de criquet (en haut) et résultat d'une analyse de la répartition de l'ion potassium à quatre niveaux de ce ganglion (en bas) : e, épinèvre ou couche protectrice; c, cortex riche en cellules nerveuses; m, couche de substances mucopolysaccharidiques; n, neuropile ou région médullaire comportant essentiellement des fibres nerveuses.*

R. Colin

	Na^+	K^+	Ca^{++}	Mg^{++}	Cl^-	SO_4^{--}
Eau de mer	100	2,2	2,3	12	120	7,2
Homme	—	3,5	1,7	0,83	71	1,7
Grenouille	—	2,4	1,9	1,2	72	
Baudroie (lotte)	—	2,8	1	1,6	72	
Coléoptère	—	11	0,93	17	34	0,13
Langouste	—	1,9	2,3	1	110	2,2
Praire	—	1,7	2,2	5,7	120	5,9
Holothurie	—	2,3	2,2	12	120	7,2

▶ *Tableau de la concentration des ions chez les êtres vivants; ces valeurs arbitraires sont calculées à partir de la concentration en sodium (100).*

Équilibres de concentration et balance ionique cellulaire

Lors de l'apparition de la vie, les premières « cellules » se sont constituées au sein de l'élément liquide; elles ne disposaient que de l'eau, des sels minéraux et des gaz venus de l'atmosphère; pour effectuer leurs synthèses, la seule source d'énergie était celle de la lumière solaire. Il s'agissait, bien sûr, d'êtres *autotrophes,* capables de trouver leur subsistance grâce à la photosynthèse. Leur structure devait être aussi simple que leurs moyens; si l'on étudie la constitution d'une Bactérie verte ou pourpre, ou bien encore d'une Cyanophycée, on y trouve un hyaloplasme entouré par une membrane plus ou moins épaisse et plus ou moins structurée; c'est au sein du hyaloplasme que se trouvent réparties les molécules dont dépend la vie. C'est donc cette *membrane plasmique* qui a permis l'*absorption* et, petit à petit, la *sélection* des éléments minéraux entrant dans la cellule. Sélection, car si l'analyse révèle que les éléments minéraux de la cellule sont les mêmes que ceux de la mer, il ne s'agit là que d'une approximation. Au cours de l'évolution, d'abord végétale puis animale, lorsque l'oxygène produit par des autotrophes a permis la vie des hétérotrophes et en particulier des animaux, il s'est constitué dans la cellule toute une série de compartiments, limités par d'autres membranes qui ont permis le fonctionnement semi-autonome des organites cellulaires, noyau ou mitochondries.

L'évolution a donc impliqué une complication croissante des systèmes de *flux ioniques* au niveau de *membranes multiples;* pourtant, le mode de sélection des éléments minéraux semble avoir peu varié. Pour R. Williams, c'est « de l'apport contrôlé de divers matériaux chimiques dans la cellule que découle cette évolution »; ces matériaux sont d'abord les minéraux.

Notion d'échange transmembranaire : principes

La concentration des éléments minéraux dans la cellule et dans ses constituants dépend de nombreux facteurs.

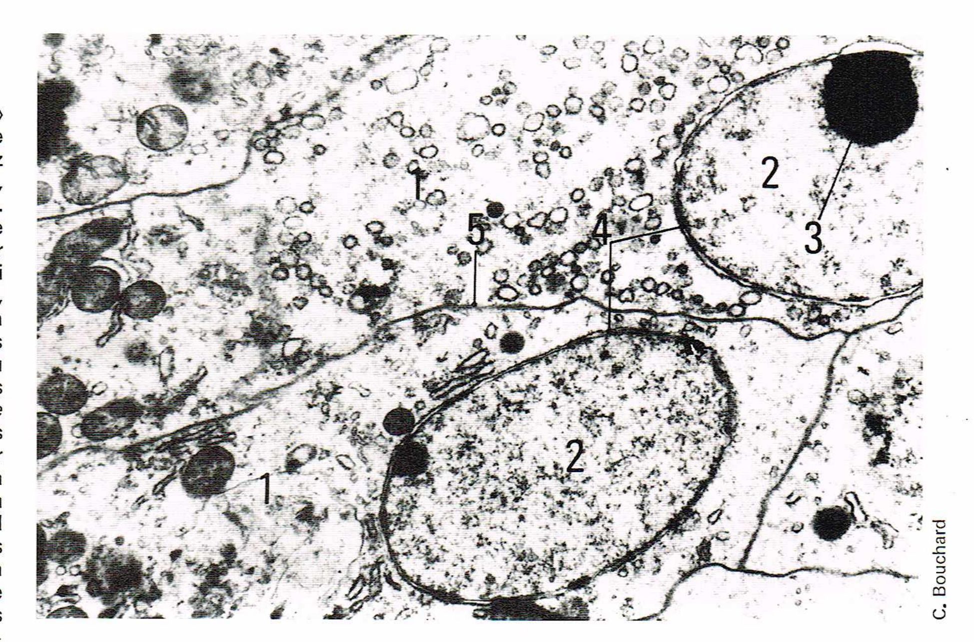
Mouvements passifs des molécules dissoutes : la diffusion

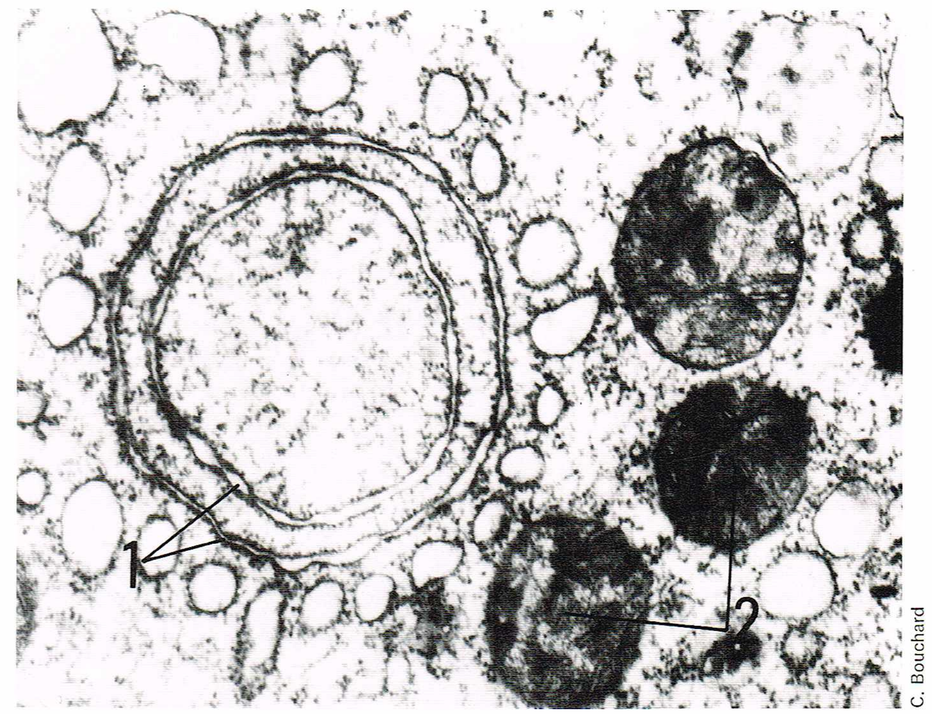
1° *Principes.*

Voici un exemple de *diffusion libre* au sein d'un solvant contenu dans un volume non compartimenté. Lorsqu'on verse dans un verre d'eau quelques gouttes de sirop de grenadine ou de menthe (soluté), on observe une diffusion lente des gouttes roses ou vertes. Il y a diffusion du soluté dans le solvant; en même temps, l'eau diffuse dans les gouttes en les diluant. En d'autres termes, soluté et solvant tendent chacun à occuper tout le volume qui leur est offert jusqu'à l'équilibre, jusqu'au stade où l'eau est uniformément colorée. Les éléments minéraux, à l'état de molécules ou à l'état d'ions, diffusent ainsi; le phénomène dépend du degré d'agitation thermique des particules dissoutes : celles-ci sont constamment en mouvement et ce mouvement constant est accéléré quand la température augmente. La diffusion se fait dans toutes les directions.

Voyons maintenant les cas de *diffusion à travers une paroi ou une membrane.* Imaginons un récipient plein d'eau et séparé en deux compartiments A et B par une paroi poreuse idéale, perméable à l'eau et aux particules dissoutes; dans un temps donné, il passe autant de molécules d'eau de A vers B que de B vers A (sinon, le niveau ne serait pas le même dans les deux compartiments). Ces compartiments sont en équilibre dynamique quand il y a deux flux de diffusion égaux et de sens opposé. Si l'on place deux liquides différents dans A et dans B ou deux solutions différentes dans ces compartiments remplis d'eau, la diffusion des deux liquides ou des deux solutés se fera à travers la paroi. Un équilibre qui sera également dynamique se trouvera constitué quand A et B contiendront le même nombre de molécules de chacun des deux liquides ou des deux solutés (non ionisés).

L'exemple du sirop de menthe nous a montré que la diffusion au sein d'un liquide est un phénomène apparemment lent. Il en est de même pour la diffusion d'éléments minéraux. Mais il faut signaler ce qui se passe réellement à l'échelle moléculaire.





▲ ***Les cellules possèdent des systèmes membranaires variés (observés ici au microscope électronique). En haut, cellules d'estomac d'ascidie : 1, cytoplasme; 2, noyau; 3, nucléole; 4, membrane nucléaire; 5, membrane cellulaire. En bas, détail du cytoplasme d'une cellule sexuelle femelle d'ascidie en croissance : 1, système membranaire formateur de vésicules; 2, mitochondries.***

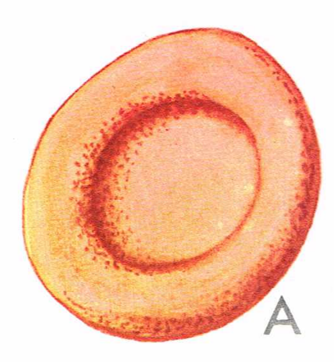
On imagine mal quelle peut être la vitesse d'une molécule : sa vitesse de diffusion est extraordinairement faible par rapport à sa vitesse réelle; la diffusion que l'on observe n'est en fait qu'un mouvement résultant, perceptible à notre échelle et qui s'effectue selon un axe préférentiel.

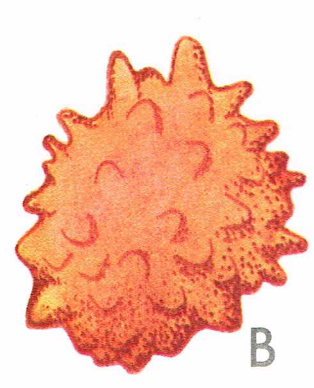
En réalité, les mouvements moléculaires se font avec changement constant de direction (par exemple, le mouvement brownien de particules visibles au microscope); ces mouvements sont extrêmement vifs; la vitesse réelle peut être calculée simplement.

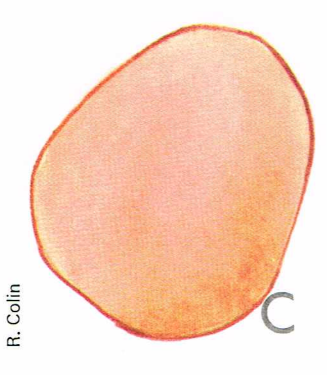
Au niveau d'une paroi poreuse, on peut calculer l'importance de la diffusion en utilisant la *loi fondamentale de Fick :*

$$dm = S \cdot \frac{dc}{dx} \cdot dt \cdot D$$

(dm = quantité de substance diffusible qui traverse la paroi en 1 seconde; S = surface de cette paroi; dc = différence de concentration [ou d'activité] entre deux points situés à une distance dx l'un de l'autre, mesurée perpendiculairement à la paroi; dt = durée de l'expérience; D = constante de diffusion, valeur particulière à chaque substance pouvant diffuser, à température constante). On peut formuler ainsi la loi de Fick dans le domaine







▲ ***Selon la concentration saline de la solution où elles se trouvent, les hématies présentent des aspects différents : aspect en milieu isotonique (A), en milieu hypertonique (B) en milieu hypotonique (C) ; dans ce dernier cas, il y a hémolyse ; dans l'eau distillée, cette hémolyse provoque l'élimination presque totale de l'hémoglobine ; les globules sont alors appelés « stromas » ou « ghosts ».***

▶▲ ***Principe de l'osmomètre : en A, l'eau passe à travers la membrane semi-perméable, de la solution la moins concentrée (C_2) à la solution la plus concentrée (C_1) ; en B, la surpression empêche le passage de l'eau.***

cellulaire : la vitesse d'absorption d'une substance par la cellule est proportionnelle au *gradient de concentration* $\frac{dc}{dx}$.

En biologie, la diffusion au niveau des membranes constitue un *flux* exprimé en µmoles par cm² de membrane et par seconde : $F = D \cdot \frac{dc}{dx}$. Comme une partie de la substance peut être liée à des éléments de la solution qui bloquent la diffusion, le gradient $\frac{dc}{dx}$ concerne uniquement la substance libre. On définit un *coefficient d'activité* ou de *liberté* γ : $F = D \cdot \gamma \frac{dc}{dx}$. On a là une valeur négative, puisque la migration de la substance en solution se fait contre le gradient de concentration (Benoit).

Au niveau cellulaire, le *flux mesurable* pour une substance donnée *y* représente la résultante de deux flux unidirectionnels opposés qui existent au niveau de la membrane ; cette résultante constitue le flux net. On peut déterminer les flux unidirectionnels ; ainsi, on introduit dans le milieu extracellulaire une quantité connue de la substance rendue radioactive et l'on estime ensuite la vitesse de diffusion transmembranaire en la dosant dans la cellule après une durée déterminée ; cela permet de trouver la valeur du flux entrant. La connaissance des flux est d'une extrême importance, en particulier pour la compréhension de l'activité nerveuse.

2° *Le flux osmotique : un exemple important « d'anomalie » de diffusion.*

Voyons d'abord le cas des globules rouges. Dans un premier temps, il faut préparer des solutions aqueuses de concentration croissante de chlorure de sodium, que l'on répartit dans une série de tubes de verre, ou dont on dépose quelques gouttes sur des lames. En ajoutant une petite quantité de sang frais aux différentes solutions, il est possible, après quelques instants, d'observer un certain nombre de phénomènes : dans les tubes, la coloration du mélange varie sensiblement ; au microscope, on voit que les globules rouges, ou *hématies*, peuvent être approximativement classés en trois types suivant la concentration de la solution saline :

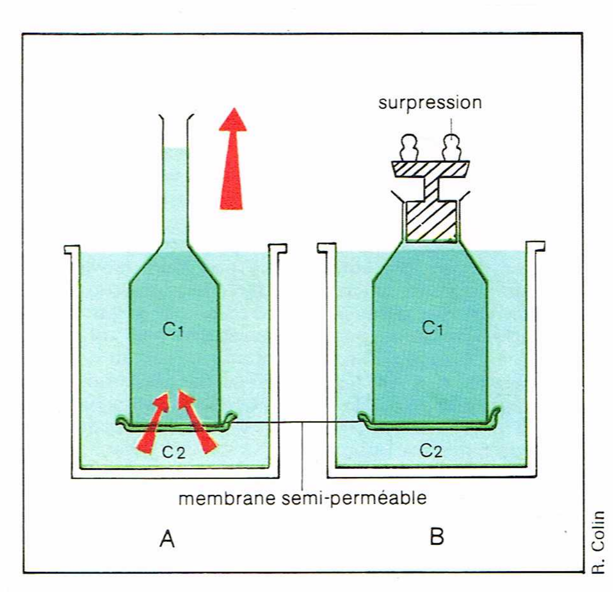
— pour une concentration de 8-9 °/₀₀, les hématies sont de forme normale ;

— au-dessous de 7 °/₀₀, elles ont un aspect distendu ; décolorées, elles paraissent sphériques dans l'eau pure ;

— au-dessus de 10 °/₀₀, les hématies ont des contours crénelés ; leur diamètre est réduit, et on a l'impression qu'elles sont contractées.

On peut, logiquement, en tirer les conclusions suivantes : si certaines concentrations de sel ne modifient pas l'état des globules — *solutions isotoniques* — les solutions concentrées — *hypertoniques* — provoquent un flux d'eau qui sort des hématies, alors que les solutions peu salées — *hypotoniques* — provoquent un flux d'eau qui passe du milieu extérieur dans les hématies ; dans ce dernier cas, les membranes sont distendues par la pression, qui paraît être forte dans la cellule (hémolyse). *Tout se passe comme si la membrane cellulaire n'était pas perméable au sel mais très perméable à l'eau :* un flux d'eau plus ou moins intense se dirige du compartiment le moins concentré au compartiment le plus concentré. Ce flux d'eau, qui dépend du déséquilibre introduit dans la concentration saline du milieu contenant les hématies, est appelé *flux osmotique*.

Prenons maintenant un exemple végétal (d'ailleurs, les premiers travaux sur l'osmose furent effectués par un botaniste, Pfeffer : il employait les racines de diverses plantes, dont *Tradescantia discolor* [misères] et *Begonia manicata*) : les cellules de l'épiderme du bégonia rouge contiennent une vacuole volumineuse et vivement colorée, qui devient rose en milieu hypotonique ; cette coloration est donc un indicateur qui permet de percevoir l'existence de flux osmotiques. Les vacuoles cytoplasmiques des cellules trempées dans l'eau deviennent roses et, en même temps, elles gonflent puisque l'eau traverse les membranes et envahit les cellules ; l'eau traverse la membrane plasmique, comme attirée par les substances dissoutes dans chaque vacuole ; cette membrane est dite *hémiperméable* puisqu'elle ne laisse passer que l'eau (du moins de façon évidente). La dilatation de la cellule



n'est limitée que par la présence du squelette externe cellulosique ; cette cellule gonflée d'eau est dite *turgescente*. Évidemment, si le fragment d'épiderme, au lieu d'être monté dans l'eau pure, est monté dans une solution contenant, par exemple, du sirop de menthe, solution plus concentrée que le liquide des vacuoles, l'eau va sortir de ces dernières, « aspirée » par le sirop, et les vacuoles vont devenir rouge très foncé, tandis que la menthe verte ne pénétrera nullement ; ces vacuoles diminueront de volume en entraînant le cytoplasme, qui va se décoller de la paroi squelettique : il y aura phénomène de *plasmolyse*.

Les flux observés dans les deux types de manipulations que nous venons de décrire, doivent impliquer l'existence d'une *différence de pression* entre le milieu extérieur et le milieu intracellulaire. La *pression osmotique* d'une solution par rapport à une autre peut être déterminée en appliquant la loi de Van't Hoff qui se résume par cette formule :

$$Posm = \pi = RT\,(C_1 - C_2)$$

(C_1 = concentration de la solution étudiée ;
C_2 = concentration du compartiment extérieur)

Elle est donc fonction de la température T ainsi que de la différence de concentration du soluté dans chaque compartiment. Remarquons que si $C_2 = 0$, c'est-à-dire si le milieu extérieur est de l'eau pure, la pression dans le compartiment intérieur est : $Posm = RTC_1$; cela peut être rapproché de l'équation de Boyle et Gay-Lussac établie pour les gaz : $PV = nRT$ (où V est le volume et P la pression exercée par *n* molécules de gaz à la température T) ; en effet, $C = \frac{n}{V}$; donc, π ou $Posm = RT\frac{n}{V}$, d'où $Posm \cdot V = nRT$ on peut par conséquent dire que la pression osmotique d'une solution a la même valeur que la pression que devrait exercer la substance dissoute si elle se trouvait sous forme de gaz et occupait le volume correspondant ; elle est d'autant plus forte que le soluté est plus concentré.

L'*osmomètre* de Dutrochet permet de mesurer cette pression osmotique. Il faut d'abord choisir une membrane ; il en existe dans l'industrie, qui sont faites à partir de cellulose et de plastiques synthétiques ; mais il en est d'autres, nettement semi-perméables : collodion, cellulose, membranes naturelles ; par membrane naturelle on entend ici la vessie de porc, par exemple, ou la peau d'un Amphibien (grenouille ou crapaud) ; une telle membrane semi-perméable ne serait pas sensiblement différente de la membrane plasmique (selon Solomon et coll.) ; un autre procédé consiste à fabriquer une membrane en précipitant du ferrocyanure de cuivre dans les pores d'une paroi inerte.

L'osmomètre est monté comme l'indique la figure. En quelques minutes le volume de la solution augmente, et le niveau monte dans le tube ; il monte d'autant plus que la pression osmotique est plus forte. Cependant, comme l'eau venant de l'extérieur dilue progressivement la solution, il est bien évident que la pression mesurable est nettement inférieure à ce que l'on pouvait attendre. On pallie cet inconvénient en plaçant un piston dans la

tubulure et en empêchant la montée du liquide; la pression que l'on doit exercer sur ce piston pour que le volume de la solution ne varie pas correspond à la pression osmotique. Durant l'osmose, la *migration du solvant* s'explique très simplement. Dans les deux compartiments, les concentrations de soluté sont C_1 et C_2, avec $C_1 > C_2$. Comme le soluté ne traverse pas la paroi, c'est l'eau qui la traverse, *tendant ainsi à égaliser les concentrations;* ce passage de l'eau peut être empêché en exerçant une surpression sur la solution C_1.

En utilisant le matériel végétal dont il a été question plus haut, il est possible d'avoir une mesure exacte de la pression osmotique au sein d'une vacuole. Il suffit de faire des montages dans une série de solutions de concentration connue. En laboratoire, on constitue une série de bains de concentration croissante en une substance donnée (sel ou sucre) et, par conséquent, de pression osmotique connue; on y met une série de coupes d'un tissu à étudier. Pour chaque bain on compte la proportion des cellules plasmolysées. A 50 % de cellules plasmolysées, on estime être à la phase de plasmolyse commençante, c'est-à-dire à la phase où le suc vacuolaire a une pression osmotique légèrement plus faible que celle du bain correspondant.

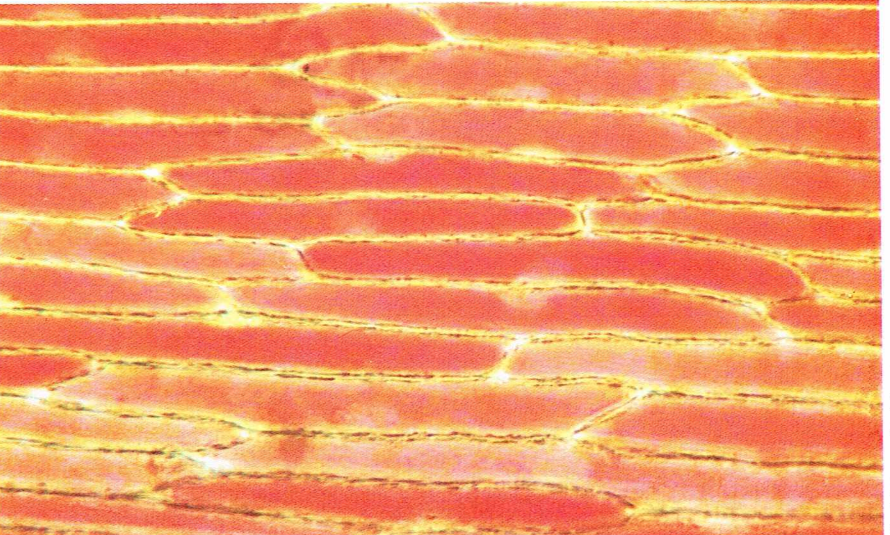
La pression osmotique d'une solution dépend du nombre de particules dissoutes; or, 1 molécule d'électrolyte fort donne 2 fois plus de particules qu'1 molécule non électrolyte.

De même que l'on parle de molarité, on parle d'*osmolarité :* 1 mole de glucose correspond à une pression de 1 *osmole,* mais une mole de chlorure de sodium correspond à 2 *osmoles.* Cette notion est très utile pour la préparation de milieux artificiels et de solutions-tampons. Remarquons que le calcul de l'osmolarité n'est pas toujours simple, car les électrolytes sont généralement incomplètement dissociés.

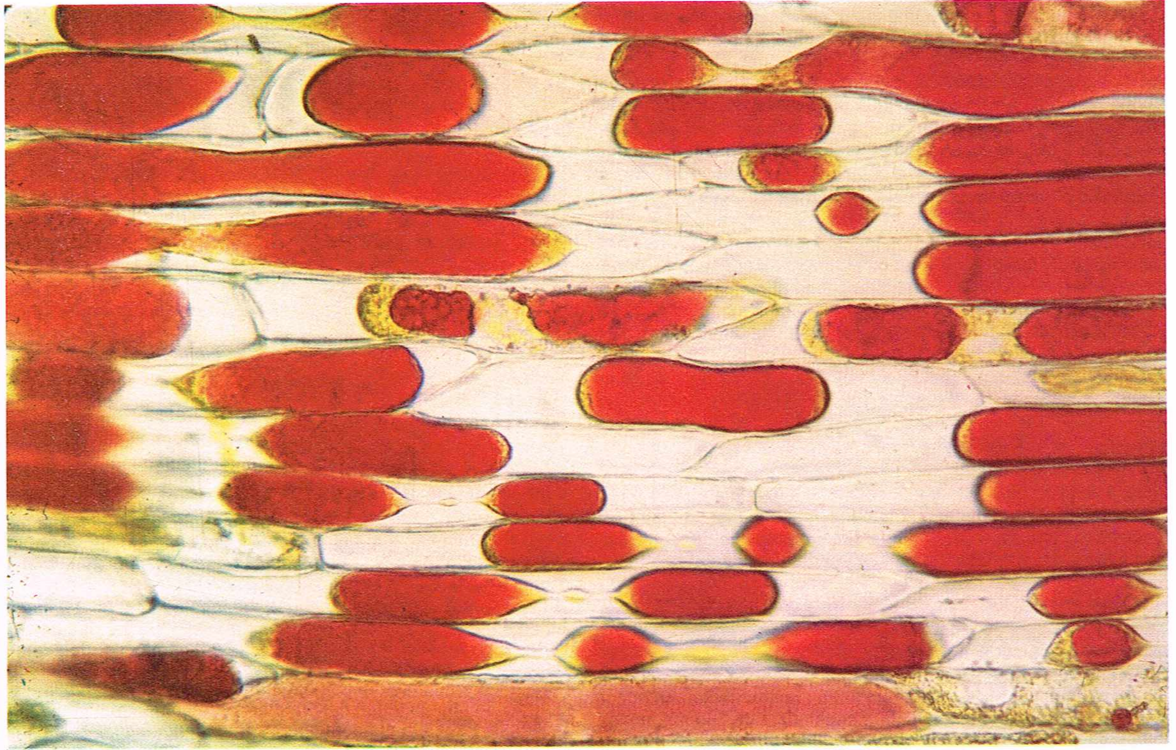
Notons enfin que le suc vacuolaire est enfermé dans une enceinte close et, lorsque l'eau entre, la vacuole gonfle jusqu'à buter contre les parois; le suc vacuolaire est alors comprimé et subit une contrainte, dite *pression de turgescence,* telle que si l'on perfore une paroi cellulaire, une gouttelette de liquide va immédiatement perler; il est évident que l'eau qui « veut » pénétrer dans la vacuole doit lutter contre cette pression interne.

Dans la nature, il n'existe pas de membranes totalement semi-perméables; en effet, ainsi que l'eau, certains éléments minéraux traversent ces parois; d'autre part, on estime que celles-ci sont pourvues de *pores,* plus ou moins larges, distincts des espaces intermoléculaires

Concentration moléculaire	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	2,0
Saccharose (sucre)	2,64	5,29	8,13	11,1	14,3	17,8	21,5	25,5	29,7	34,6	116,6
ou Chlorure de sodium (sel)	4,3	8,4	12,5	16,6	21,0	25,7	29,7	34,2	38,6	43,3	96,4



Nuridsany - Reichert



Nuridsany - Reichert

◀▲ ***En haut, tableau de la pression osmotique de solutions de saccharose et de chlorure de sodium; mesures réalisées à 20 °C et exprimées en atmosphères (d'après Bennet-Clark). En bas, cellules de l'épiderme de pétale de tulipe en état de turgescence. A gauche, ces mêmes cellules plongées dans une solution hypertonique de chlorure de sodium perdent de l'eau et leurs vacuoles se contractent, ces cellules sont en état de* plasmolyse.**

normaux qui seraient caractéristiques de véritables membranes semi-perméables. Donc, en plus du flux net de l'eau, on a un flux net de Na^+ ou de Cl^- par exemple; par ailleurs, une partie de l'eau et des molécules entrant dans la cellule passerait par des pores assez larges qui permettraient un *écoulement massif* du solvant, phénomène dit de *convection,* ou « drag effect ».

La polarisation électrique des membranes biologiques : mise en évidence d'un transport actif des ions

1° *Existence d'un « potentiel membranaire » lié à un flux passif des ions.*

Il existe toujours une *différence de potentiel* (ddp) entre les deux faces d'une membrane biologique; elle est en rapport direct avec une *inégalité des concentrations ioniques* entre la cellule et son milieu.

Pour un *modèle non biologique,* on démontre qu'une ddp membranaire Em existe et qu'elle dépend du potentiel électrochimique du système $\Delta\mu$. Dans des conditions expérimentales bien définies, $\Delta\mu$ est lié à Em et aux *concentrations ioniques* par l'équation suivante :

$$\Delta\mu = Ka \cdot Em + Kb \cdot \log \frac{C_1}{C_2}.$$

Un *équilibre* est atteint quand il n'y a *pas de flux net* d'électrolyte, c'est-à-dire quand $\Delta\mu = 0$. L'équation devient alors $Em = \frac{Kb}{Ka} \cdot \log \frac{C_2}{C_1}$ ou $Em = K \cdot \log \frac{C_2}{C_1}$; c'est la formule fondamentale de Nernst; la constante K varie suivant les conditions de température et la charge de l'ion étudié. Si $C_2 > C_1$, on l'applique telle quelle dans le cas d'un cation; par contre, il faut intervertir C_1 et C_2 s'il s'agit d'un anion. *A l'équilibre,* l'inégalité des concentrations est contrebalancée par l'existence de la différence de potentiel membranaire Em. On se sert de cette équation pour les systèmes membranaires biologiques *à l'équilibre* ou *au repos.*

Lorsque la concentration d'un ion donné est modifiée dans le milieu extérieur, le potentiel mesuré de chaque côté de la membrane biologique varie souvent de façon considérable. Cela implique l'existence, au moins momentanée, d'un *flux net* entre les compartiments; en d'autres termes, l'équilibre dynamique du flux entrant et du flux sortant est temporairement perturbé. La formule de Nernst ne s'applique plus à ce moment; le rapport des deux flux unidirectionnels varie en fonction du potentiel électrochimique (Téorell). Signalons que Goldmann a établi une formule dérivée de celle de Nernst et qui s'appliquerait de manière générale.

Les principes des mesures sont les suivants :

— *Concentrations extra- et intracellulaires.*

Pour déterminer ces concentrations, il faut calculer au préalable le volume total (Vt) du fragment d'organe étudié, puis les volumes extra- et intracellulaires (Ve et Vi) ; l'inuline, glucide végétal qui peut envahir les espaces extracellulaires sans pénétrer dans les cellules, permet d'y parvenir : on mesure d'abord la quantité d'inuline I absorbée par le tissu ; Ve = I/concentration extracellulaire de I (connue); on obtient ainsi le volume total des cellules, puisque Vi = Vt — Ve. Un calcul simple permet ensuite de déterminer la concentration intracellulaire d'un élément minéral quelconque lorsqu'on connaît sa concentration extracellulaire.

— *Mesure des flux ioniques par la méthode des isotopes.*

Dans la cellule, au repos ou non, la vitesse de pénétration d'un ion radioactif peut être mesurée avec une certaine exactitude. On utilise un système de « comptage à scintillation » : les rayonnements ionisants émis par les isotopes provoquent la *luminescence* de certaines substances lorsqu'ils les frappent; cette luminescence est mesurée grâce à un photomultiplicateur qui estime l'intensité de scintillation. Les dosages sont effectués sur des homogénats cellulaires.

Rappelons que la plupart des éléments ont plusieurs isotopes dont les propriétés chimiques sont voisines. Leur masse atomique est augmentée par adjonction de neutrons, ainsi que leur charge électrique lorsqu'ils sont ionisés, mais pas leur nombre de charge. En général, ce sont les isotopes instables ou radioactifs qui sont utilisés comme *traceurs* biologiques. Le type de rayonnement varie avec la nature de l'élément. Certains d'entre eux peuvent être dangereux pour l'expérimentateur (c'est le cas de l'iode). On utilise beaucoup le tritium, ^3H, dont le rayonnement est très peu pénétrant. Les doses que l'on emploie sont toujours faibles, de l'ordre de quelques millicuries : 1 curie correspond à $3,7 \times 10^{10}$ désintégrations/seconde (c'est ce qui se produit dans 1 g de radium).

— *Mesure de la différence de potentiel transmembranaire au niveau cellulaire.*

Il faut introduire une micro-électrode dans une cellule; l'électrode extracellulaire est baignée par le liquide interstitiel. La fabrication d'une *ultramicro-électrode* est assez délicate : l'extrémité doit avoir un diamètre inférieur à 1 μ; sinon, la pénétration dans la cellule provoque une lésion. A l'aide d'une microforge, on étire un tube de verre capillaire, puis on le casse. L'électrode, que l'on monte sur un micromanipulateur du type de Fonbrune, est remplie d'une solution concentrée de KCl, qui sert de conducteur. Étant donné que la pointe de verre de cette électrode n'est pas visible au microscope, on sait qu'elle est en place quand on enregistre entre les électrodes une ddp convenable. Le système enregistreur comporte, bien sûr, un amplificateur lié au voltmètre (sondes à charge cathodique, à tube thermo-ionique, ou à transistor à effet de champ [Benoit]).

2° *Le transport actif des ions.*

Voici des résultats qui servent de base pour l'étude des équilibres ioniques de la cellule vivante.

— Le milieu extracellulaire est électropositif.

— Le potentiel membranaire de la cellule au repos se situe aux environs de — 80 mv et dépend du matériel biologique étudié (la valeur négative est une convention).

— Les *mesures de concentration* des différents ions (voir le tableau) permettent de déterminer grâce à l'équation de Nernst, la différence de *potentiel d'équilibre théorique* pour tel ou tel ion. Or, cette ddp est généralement différente de la *valeur mesurée.* Dans le cas de la cellule musculaire « striée » de Mammifère, dont le potentiel mesuré est de — 90 mv, seul l'ion chlore donne une valeur théorique identique; on obtient — 95 mv pour K^+ et + 65 mv pour Na^+.

— Inversement, pour une valeur mesurée de — 90 mv, on devrait avoir un rapport de concentrations égal à 31,6. C'est le cas pour le chlore, mais pas pour les autres ions.

— On peut en conclure que, sauf dans le cas du chlore, il n'y a pas d'équilibre électrochimique entre la cellule et son milieu. Il existe, pour la plupart des ions, un *flux net diffusionnel,* flux passif et qui dépend du déséquilibre électrochimique : Na^+ tend à entrer dans la cellule, et K^+ tend à sortir. Pourtant, *la cellule est capable de maintenir constantes ses concentrations ioniques :* K^+ est 38 fois plus abondant à l'intérieur de la cellule que dans le milieu, et c'est l'inverse pour Na^+.

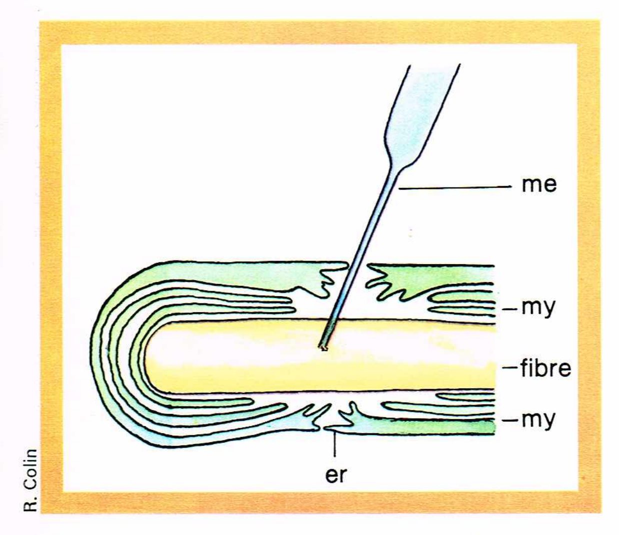
— Plusieurs théories avaient été formulées pour tenter d'expliquer de quelle façon cela pouvait s'établir (Bernstein, 1908; Boyle et Conway, 1945).

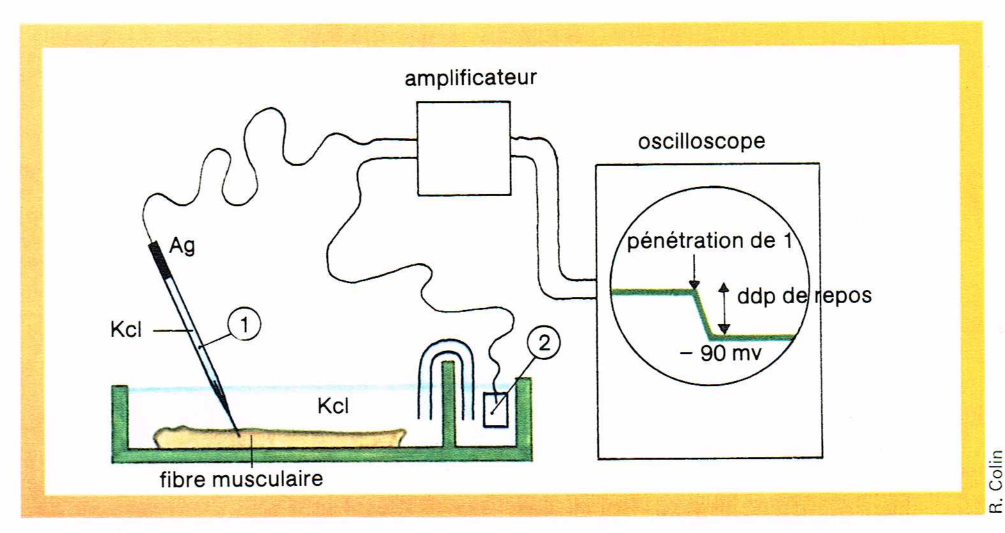
Pour compenser ces flux nets la cellule effectue un *travail* qui lui permet de récupérer le potassium perdu et de rejeter le sodium en excès. On parle, dans ces cas, d'un *transport actif* des ions à travers la membrane (il n'y a pas de transport actif dans le cas du chlore).

— Il existe un rapport étroit entre les mouvements de K^+ et de Na^+ : des cellules maintenues en survie dans un milieu pauvre en K^+ absorbent en « remplacement » les ions Na^+. L'utilisation d'un milieu extérieur où le sodium est marqué permet de mettre en évidence une intense pénétration dans la cellule, combinée à un rejet rapide. On utilise le terme de *pompe à sodium* lorsqu'on évoque le transport actif des ions; cette pompe implique un *couplage des flux de sodium et de potassium.* Si l'on supprime K^+ du milieu extérieur, il y a diminution du transport actif de Na^+ vers l'extérieur, comme on peut le constater en marquant initialement la fibre nerveuse du calmar avec du radiosodium. On a *couplage* entre le flux entrant de K^+ et le flux sortant de Na^+ (Hodgkin et Keynes); si, par divers moyens, on inhibe la sortie de sodium, on inhibe du même coup l'entrée de potassium.

Le mécanisme du transport actif a pu être partiellement compris grâce à divers résultats, parmi lesquels nous citerons essentiellement ceux de Schoffeniels obtenus avec la peau de grenouille et par la méthode d'analyse des flux.

► ***Page ci-contre, à gauche, en bas : représentation schématique du mouvement du potassium et du sodium à travers la membrane cellulaire; ce phénomène est connu sous le nom de « pompe à sodium ».***



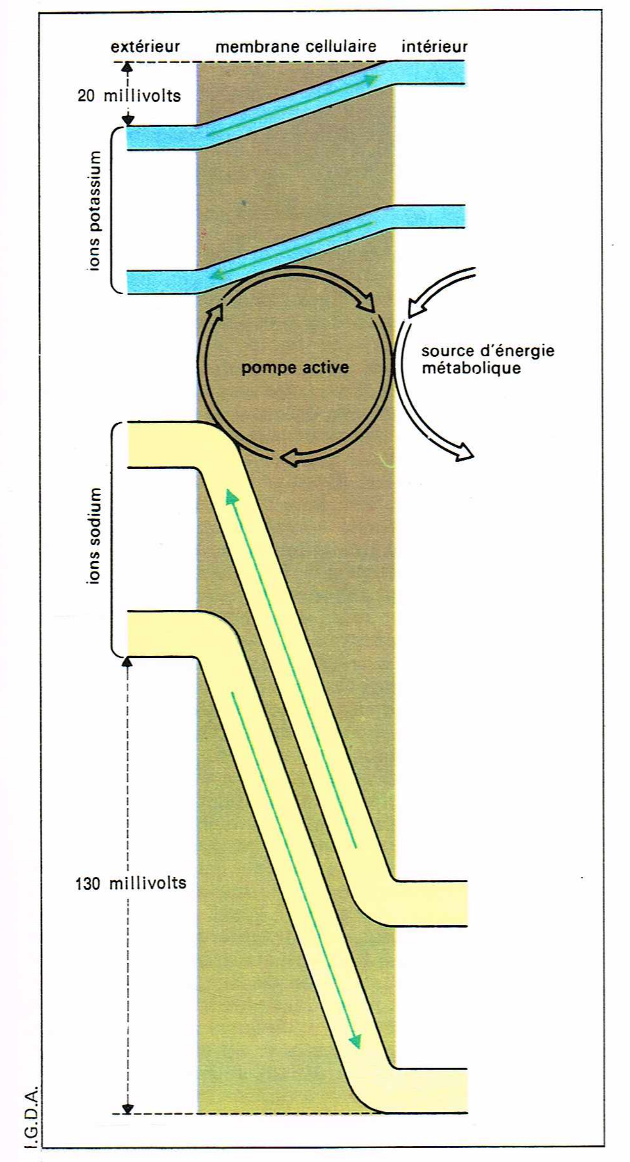


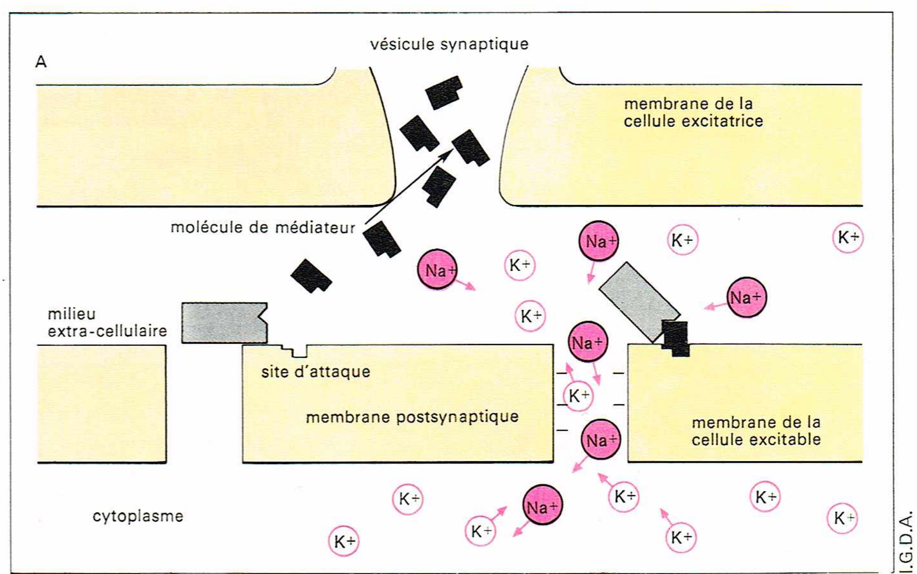
Dans une première série d'expériences, Schoffeniels a constaté que le transport actif de radiosodium est très important.

Dans une seconde expérience, il a procédé de la même manière, en bloquant les processus de dégradation des aliments cellulaires grâce à l'emploi du 2,4 *dinitrophénol* (DNP). Les effets se font sentir en quelques minutes : l'inhibition du métabolisme général bloque fortement les flux de Na^+ et inverse le potentiel mesuré. Dans

▲◀ A gauche, mise en place d'une micro-électrode (me) au niveau d'un étranglement de Ranvier (er) d'une fibre nerveuse entourée d'une gaine de myéline (my).
A droite, mode de détermination du potentiel de repos d'une fibre musculaire : 1, micro-électrode remplie de KCl ; 2, électrode d'argent.

▼ En haut, étude du passage des ions K^+ et Na^+, au niveau d'une synapse ; les molécules de médiateur chimique (en noir) ouvrent les canalicules de la membrane cellulaire, permettant ainsi le flux des ions potassium et sodium.





Concentration de quelques ions biologiquement importants (d'après Ruch et Fulton, modifié)

	mEq/l Liquide extra-cellulaire	mEq/l Liquide intra-cellulaire (muscle)	Rapport (ion) ext. / (ion) int.	Potentiel d'équilibre en m v
Sodium	145	12	12,1	65
Potassium	4	155	1/39	— 95
Hydrogène	$3{,}8.10^{-5}$	10.10^{-5}	1/3,4	— 32
Chlore	120	3,8	31,6	— 90
Bicarbonate	27	8	3,4	— 32

ces cas, le rapport des flux est proche des valeurs calculées; le système membranaire est donc inerte, et les flux sont purement passifs. Dans le cas de la peau normale, les ions Na^+ sont transportés activement à travers « la membrane » et *l'énergie nécessaire vient du métabolisme cellulaire.*

Hodgkin et Keynes ont constaté, d'autre part, qu'un abaissement de température provoque déjà une *réduction* du transport actif pour la fibre nerveuse de la seiche; par contre, le transport actif est *amélioré* par une intense oxygénation du milieu qui active le métabolisme et donc la synthèse de produits phosphorés, riches en énergie.

▼ Résultat de l'expérience de Schoffeniels; le compartiment externe contenait 11,5 μ Eq./ml de sodium, et le compartiment interne 115 μ Eq./ml; noter l'importante variabilité individuelle : c'est un fait commun en biologie.

Expérience de Schoffeniels (résultats simplifiés)

	Flux entrant	Flux sortant	ddp entre les 2 faces en mv	Rapport des flux mesuré	Rapport des flux calculé	
Valeurs obtenues avec la peau normale	0,34	0,09	62	3,66	0,01	Transport actif important
	0,44	0,14	82	3,07	0,02	
	0,23	< 0,01	72	28,5	0,02	
Valeurs obtenues avec la peau + 2,4 DNP	0,25	1,57	— 11	0,16	0,15	Blocage du transport actif
	0,05	0,56	— 6	0,09	0,13	
	0,03	0,22	— 7	0,15	0,13	

R. Colin

Voici ce qui se passe dans la seconde expérience de Schoffeniels. Le DNP empêche, dans la cellule vivante, la synthèse d'ATP, molécule riche en énergie et capable de la céder facilement pour déclencher les réactions biochimiques dont dépend le travail membranaire. L'ATP, ou adénosine triphosphate, a des fonctions diverses. La formule de l'ATP peut être simplifiée de la façon suivante :

$$\text{ATP} = \text{adénine} - \text{ribose} - \overset{1}{P} - O \sim \overset{2}{P} - O \sim \overset{3}{P};$$

le symbole ~ correspond à une liaison riche en énergie (Lipmann). Cette énergie libérable vient du fait qu'il s'agit d'une molécule *conjuguée : les électrons pi,* dépendant des doubles liaisons et ne participant donc pas à l'architecture rigide de la molécule, donnent à celle-ci *une énergie de résonance* (voir Florkin et Schoffeniels).

ATP

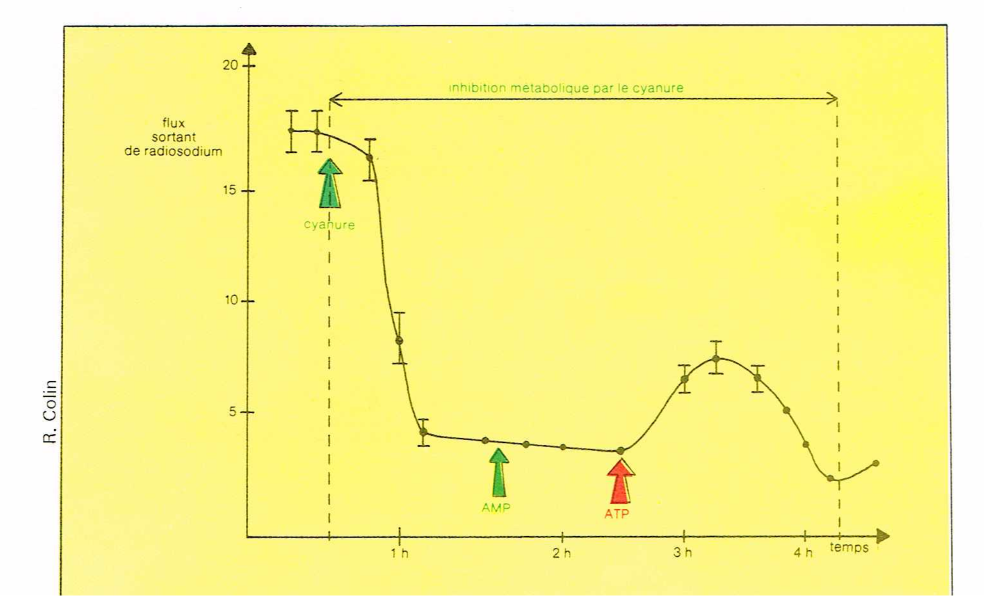
NH_2 — adénine

$CH_2-O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-OH$

trois "groupements phosphates"

OH OH — ribose (sucre en C_5)

R. Colin



R. Colin

▼ Résultats graphiques d'une expérience de Caldwell et Keynes au sujet du flux de sodium sortant d'une fibre nerveuse géante de calmar. L'introduction de cyanure entraîne un blocage du transport actif de sodium; l'injection d'AMP ne produit aucune amélioration; celle d'ATP améliore temporairement l'activité membranaire.

Deux confirmations du rôle de l'ATP dans le transport actif des ions ont été apportées, par Caldwell d'une part, Florkin et Schoffeniels d'autre part. Caldwell a inhibé d'abord le flux sortant de Na^+ dans une fibre nerveuse géante de Céphalopode; il a utilisé pour cela le cyanure, qui bloque les oxydations repiratoires et donc la synthèse de l'ATP. Il a montré que cette inhibition est levée par l'injection d'ATP dans la fibre et que l'efficacité d'une telle opération dépend directement de la quantité injectée. Florkin et Schoffeniels citent le cas des globules rouges hémolysés dans une solution très hypotonique mais à laquelle on a ajouté de l'ATP; cet ATP suffit à maintenir le transport actif de Na^+ : la membrane isolée (« ghost ») est réactivée par l'ATP; cette membrane plasmique reste donc vivante et fonctionnelle.

D'autres expériences donnent des résultats de même nature; *le couplage transport actif-métabolisme* est bien établi, mais, en fait, on ne connaît pas bien ce qui se passe au niveau de la membrane. Il est nécessaire de faire intervenir *une ou plusieurs enzymes qui catalysent la déphosphorylation de l'ATP;* en effet, comme la plupart des substances à liaisons riches en énergie, les molécules d'ATP, confrontées avec la réaction à déclencher, ici le transport actif, ne fourniraient cette énergie que très lentement, donc de manière inefficace; un catalyseur est donc nécessaire pour activer la réaction et permettre le couplage : il s'agit d'une ATPase. Une enzyme de ce type a été mise en évidence dans les membranes : elle ne peut agir qu'en présence d'un certain nombre de minéraux, ce qui montre que ces éléments jouent un rôle régulateur, au niveau enzymatique, sur leur propre concentration dans la cellule (Post et coll., et Skou, 1960). L'action de cette ATPase peut être bloquée, comme la « pompe sodium-potassium », par les substances cardiotoniques telles que la *digitaline* et l'*ouabaïne* (glucosides d'origine végétale).

Outre ces résultats, de nombreuses recherches sont en cours pour mieux connaître ce qui se passe au niveau des membranes.

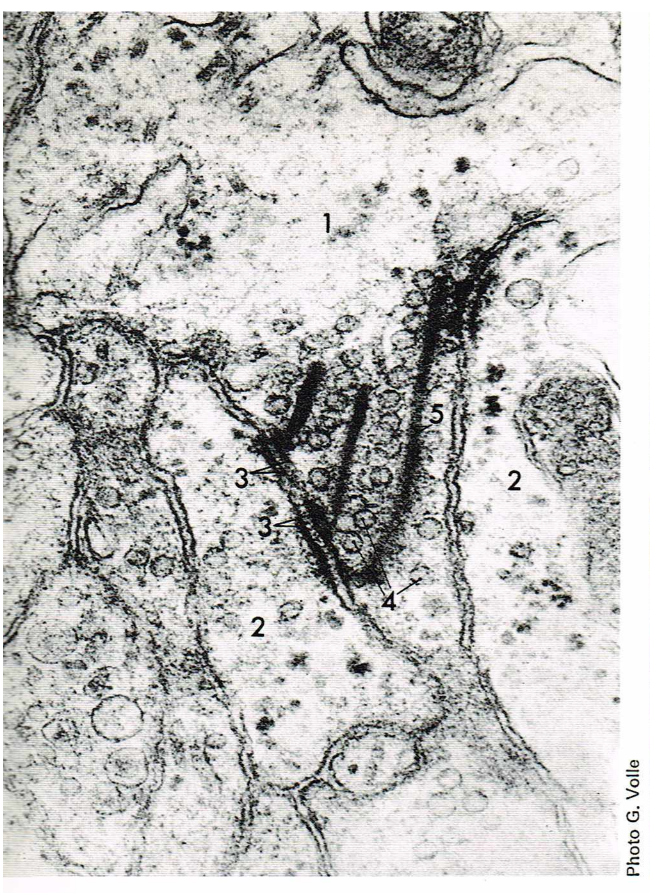
Importance des éléments minéraux

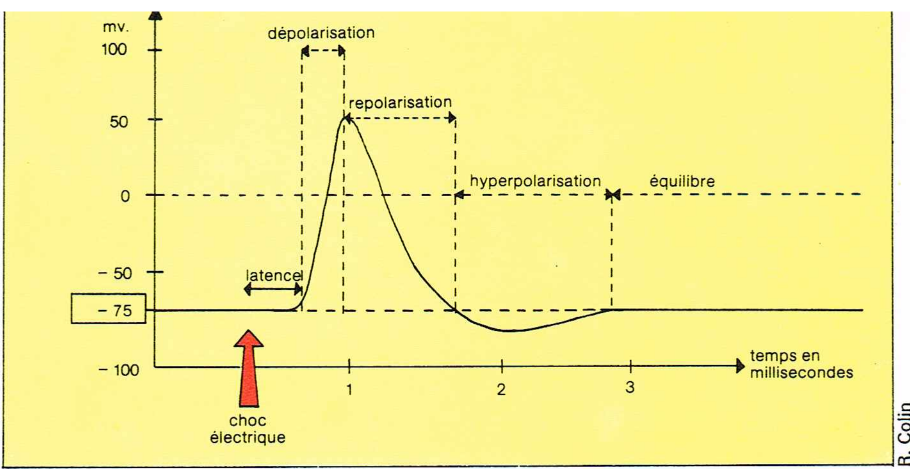
Les cations les plus abondants de l'organisme

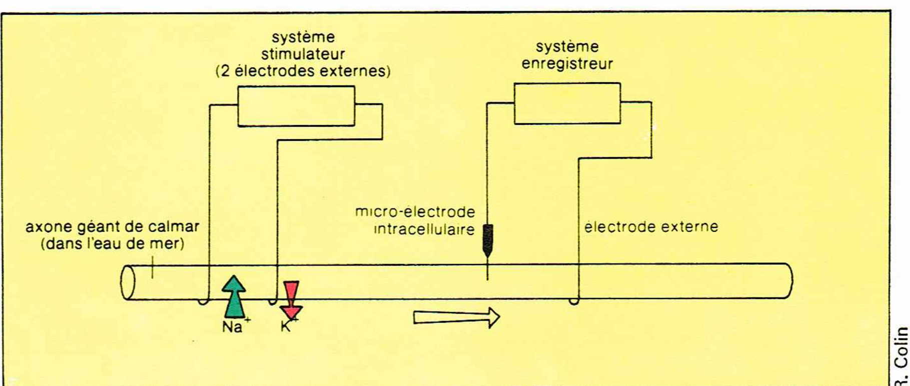
— Le *sodium,* le *potassium* et le *magnésium* sont des *stabilisateurs* de structures cellulaires : ils neutralisent les charges anioniques des grosses molécules et, en particulier, des radicaux phosphate.

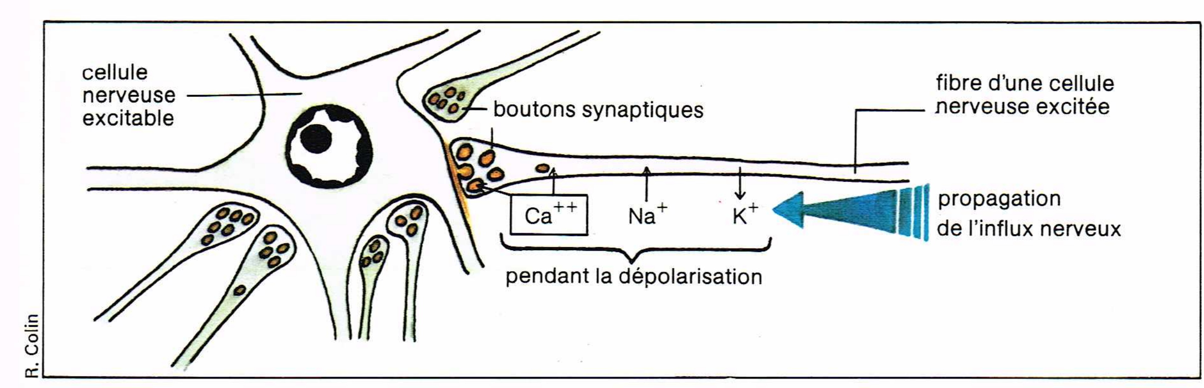
— Au moins pour le potassium et le magnésium, on peut ajouter que ces ions *favorisent l'activité enzymatique :* certaines réactions, comme la combustion des sucres, la synthèse des matières grasses ou celle des protéines, réclament un optimum de concentration de ces ions dans la cellule. Ceux-ci ont un rôle régulateur.

— Une autre fonction, essentielle, concerne les ions Na^+, K^+, et Ca^{++} : il s'agit de l'*irritabilité cellulaire* et de la *conduction nerveuse.* Nous donnons ici le principe du phénomène. On sait depuis Bernstein que l'irritabilité se manifeste par une *dépolarisation* locale de la membrane de la cellule; pour une cellule nerveuse, cette dépolarisation *se propage* le long de la membrane, puis le long de la fibre nerveuse; la dépolarisation est très brutale mais enregistrable; elle correspond à l'entrée de Na^+ et à la sortie de K^+. Expérimentalement, on obtient ce résultat par une décharge électrique en un point de la cellule ou en utilisant un *médiateur chimique.* Dans les conditions naturelles, le médiateur vient d'une cellule voisine, accolée à celle que l'on étudie au niveau d'une *synapse :* il est initialement contenu dans des petites vésicules synaptiques et correspond à la *nor-adrénaline* dans le cas du système sympathique, et à *l'acétylcholine* dans le cas du système sensitivo-moteur rachidien. Ces médiateurs se fixent sur des sites actifs (protéiques) de la membrane à exciter, en provoquant un changement de configuration, qui permet l'*ouverture des points de passage ionique,* donc l'entrée de Na^+, etc. La structure de la protéine réceptrice de l'acétylcholine n'est pas encore connue, mais divers laboratoires y travaillent actuellement (Lee et Chang à Formose; Changeux, Meunier et coll. à Paris; Miledi et Potter à Londres). L'équipe de J.-P. Changeux a pu localiser les sites récepteurs grâce à l'immuno-fluorescence (1971). Ces recherches doivent permettre une interprétation généralisée









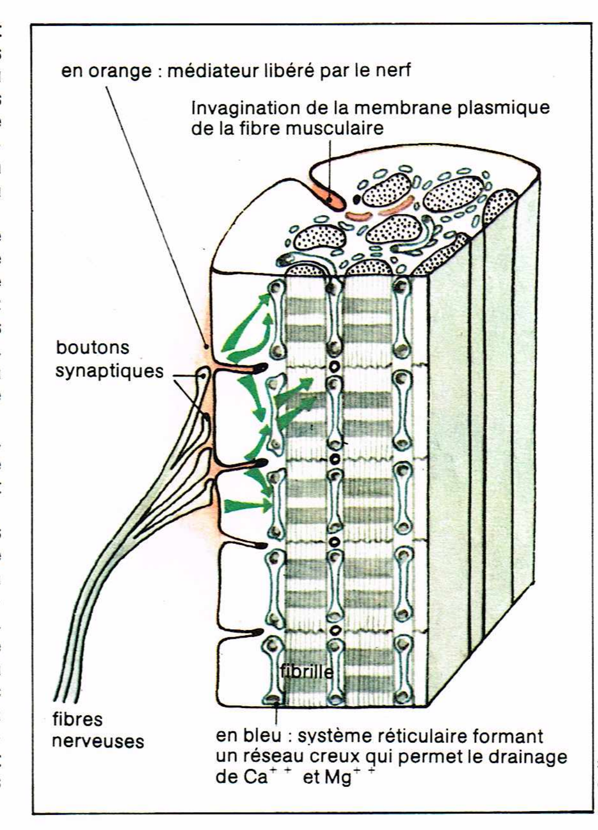
◀▲ A gauche, en haut : cliché en microscopie électronique montrant le contact synaptique entre deux cellules de l'organe frontal d'un Amphibien : 1, cellule sensorielle; 2, cellules excitables; 3, épaississements membranaires synaptiques; 4, vésicules synaptiques; 5, rubans synaptiques (organites mal connus, particuliers à cet organe). Ci-contre, schéma de la transmission de l'influx nerveux; en orange, le médiateur. A droite, en haut, enregistrement de la dépolarisation membranaire. A droite, en bas, principe du montage des électrodes pour la détermination des effets d'une excitation électrique de la membrane.

des mécanismes de la transmission de l'influx. Il y aurait deux types de passages transmembranaires, les plus étroits permettant la sortie des ions K^+, petits car peu solvatés, alors que les ions Na^+ passeraient par des ouvertures plus larges. Après la phase d'excitation, une enzyme membranaire hydrolyse spécifiquement le médiateur en excès, ce qui, en déplaçant l'équilibre de liaison médiateur-site actif, libère les sites actifs et rend à la membrane sa perméabilité de repos.

Le rôle du calcium est fondamental durant la période d'excitation et celle de retour à la normale : lorsque l'onde de dépolarisation *(l'influx)* se propage dans la fibre nerveuse, Ca^{++} entre dans cette fibre à la suite du Na^+; il se trouve ainsi en contact avec les vésicules synaptiques du bout de cette fibre et il s'incorpore à leur membrane, dont il provoque la *rupture* (rupture d'émulsion). Cela libère le médiateur et induit l'excitation d'une cellule voisine.

D'autre part, durant la période de retour à la normale, le calcium joue un rôle important dans l'hydrolyse de l'ATP, donc dans la libération d'une énergie qui est indispensable au réamorçage de la pompe Na — K.

— *La contraction musculaire* dépend directement des ions Mg^{++} et Ca^{++}. Ceux-ci favorisent l'hydrolyse de l'ATP; l'énergie est libérée, ce qui permet la contraction des myofibrilles. Parallèlement, le calcium pénètre activement dans le hyaloplasme de la cellule musculaire, lorsque celle-ci est excitée, et se fixe sur un complexe protéique, la *troponine;* or, ce complexe inhibe la contraction des myofibrilles. Le rôle du calcium est donc double : il favorise le couplage hydrolyse ATP/contraction et, parallèlement, il élimine l'effet inhibiteur de la troponine. Enfin, la relaxation des myofibrilles ne peut s'effectuer que si le calcium est activement rejeté hors de la cellule.



◀ Action du calcium sur la fibre musculaire : le médiateur, libéré par le nerf, pénètre dans de profondes invaginations de la fibre musculaire et permet l'entrée du calcium dans un réseau étroitement accolé aux fibrilles contractiles.

— Sans évoquer dès maintenant le rôle du calcium dans la formation des éléments squelettiques du règne animal, signalons qu'il possède encore d'autres fonctions.

Le calcium permet la *sécrétion hormonale ;* les cellules qui synthétisent les hormones peuvent subir une excitation d'origine nerveuse ; elles reçoivent, en quelque sorte, un message qui modifie leur perméabilité membranaire : le calcium entre dans ces cellules, brise les membranes des vésicules de sécrétion, permettant ainsi l'expulsion de l'hormone dans le courant sanguin. Ce phénomène rappelle celui qu'on a noté pour les vésicules synaptiques.

Enfin, l'ion Ca^{++} est fondamental pour la *coagulation sanguine* au niveau des plaies. On sait depuis 1905 que le sang contient une protéine particulière, le *fibrinogène,* qui perd son caractère de solubilité en présence d'une enzyme, la *thrombine ;* cette enzyme ne se trouve pas dans le sang circulant : celui-ci contient, en fait, une *prothrombine* qui, pour devenir active, nécessite des ions Ca^{++} :

prothrombine + Ca^{++} + kinase (2e enzyme) → thrombine ;
fibrinogène + thrombine → fibrine → caillot.

De plus, si on décalcifie du plasma et si on le conserve au froid, il ne coagule plus lorsqu'on le recalcifie (Quick, 1943) ; par contre, une addition minime de plasma frais dont on a enlevé la prothrombine (par adsorption sur alumine) permet la coagulation. Il y a donc un facteur supplémentaire, labile. Ce facteur correspondrait au moins à 5 substances différentes. Quoi qu'il en soit, la coagulation dépend fondamentalement du Ca^{++} et se trouve abolie lorsque le sang contient des complexants, ou *chélateurs,* qui accaparent le calcium et le rendent inactif (par exemple, l'acide citrique et diverses substances utilisées expérimentalement).

Chez les végétaux, le calcium diminue la perméabilité cellulaire, freine l'absorption de l'eau et accélère la transpiration ; c'est, à l'inverse de K^{+}, un facteur de flétrissement ; d'ailleurs, Ca^{++} est un antagoniste de la plupart des autres cations. Enfin, le calcium entre dans la constitution du squelette végétal puisqu'il se trouve sous forme de pectate de calcium dans la lamelle moyenne qui relie les capsules cellulosiques de toutes les cellules.

Les oligo-éléments

Si les métaux alcalins, alcalino-terreux et terreux sont relativement abondants chez les êtres vivants, il n'en est pas de même pour divers métaux qualifiés d'oligo-éléments. Il s'agit, surtout, du zinc, du fer, du cuivre, du cobalt et du molybdène. On pourrait aussi qualifier d'oligo-éléments divers éléments, moins abondants que les chlorures, sulfates ou phosphates et nitrates : le brome, l'iode, le fluor et le bore.

En général, les oligo-éléments métalliques ne sont pas ionisés : ils sont essentiellement *liés* à des molécules, souvent lourdes ; l'ensemble constitue un *complexe organométallique.*

Un exemple biologique bien connu a été particulièrement étudié ces dernières années : il s'agit de l'*hémoglobine* des globules rouges, complexe protéique comportant un atome de fer ferreux. Le fer est le point d'accrochage de l'oxygène respiratoire. Le métal est dit *tétracoordiné* puisqu'il est attaché à quatre groupements particuliers, ou *groupements pyrroliques,* l'ensemble étant fixé à un acide aminé, l'histidine. Le tout constitue la partie active de l'hémoglobine : la ferroprotoporphyrine, ou *hème.* L'hémoglobine est en fait une molécule beaucoup plus volumineuse, puisque l'hème est relié à une chaîne d'autres acides aminés, constituant la *globine ;* il faut 4 globines pour faire une molécule d'hémoglobine.

Cette brève description donne une idée de la façon dont un oligo-élément peut être inclus dans une molécule organique. Durant la respiration, l'oxygène se lie au fer et provoque une déformation de l'hème : l'atome de fer, au lieu d'occuper un sommet de tétraèdre, vient se placer dans le plan des 4 groupes pyrroliques *(transition allostérique) ;* cela provoque une tension de la chaîne d'acides aminés à laquelle l'hème est relié. Selon Williams, cette tension augmente, chez les autres globines qui lui sont associées, la susceptibilité de liaison avec d'autres atomes d'oxygène ; il y a donc message et ce que l'on appelle un *effet coopératif* (Durand) ; de même, lorsque une globine cède son oxygène aux cellules qui en ont besoin, les autres globines sont très fortement incitées à en faire autant (Monod, Wyman et Changeux, 1964).

D'autres substances, à rôles variés, sont construites sur un plan général qui rappelle celui de l'hémoglobine : ainsi, la *myoglobine,* dont les globines ne sont pas associées, sert de réservoir d'oxygène pour le muscle. Là encore, le fer joue un rôle déterminant dans la fonction de l'hème. Signalons aussi les *cytochromes,* qui constituent une partie des « ferments respiratoires » transportant les électrons jusqu'à l'oxygène durant l'oxygénation des substances de réserve.

De telles molécules peuvent être au *fer* ou au *cuivre* suivant le groupe zoologique auquel elles appartiennent : les hémoglobines des Vertébrés contiennent du fer, les *hémocyanines* des Mollusques ou des Arthropodes du cuivre. D'autres groupes, comme les Annélides marines, ont des pigments au fer dont le groupement macromoléculaire protéique n'est pas celui des hémoglobines ; pourtant, l'hème est identique. Ce dernier, qui joue le rôle déterminant, constitue le *groupement prosthétique* de ces complexes. Un tel groupement tétrapyrrolique existe aussi chez certaines enzymes (catalase et peroxydase).

Enfin, il faut remarquer que les *chlorophylles,* pigments végétaux, sont construites autour d'un groupement

▶ ***Représentation schématique de l'hémoglobine : en haut, structure de la ferroprotoporphyrine ou hème (en vert, un groupement pyrrolique) ; au milieu, schéma d'une demi-molécule d'hémoglobine ; le fer englobé dans l'hème (ici en rouge) est entouré par un peloton protéique ; en bas, disposition du fer dans l'hème.***

R. Colin

prosthétique héminique. Cette fois, c'est le magnésium qui prend la place du fer ou du cuivre dans ce groupement; il ne s'agit pas d'un oligo-élément.

Toutes ces molécules sont très stables. On en tire argument pour leur attribuer une origine extrêmement éloignée, thèse qui semble renforcée par le fait qu'elles sont universellement répandues dans la nature. Les êtres vivants auraient trouvé, d'emblée, les molécules à la fois les plus stables et les plus efficaces.

Deux autres éléments métalliques, dont il est moins souvent question, jouent un rôle important : le *cobalt* et le *molybdène*.

Le cobalt entre dans la constitution de la *vitamine* B_{12}, ou cyanocobalamine; il occupe la même position que celle tenue par le fer dans les groupements héminiques. Chez les Vertébrés, c'est un stimulant de la multiplication des globules sanguins *(hématopoïèse)*; cette vitamine doit être absorbée avec la nourriture, car elle n'est pas synthétisée par l'organisme; par contre, elle l'est par les Bactéries et les Algues.

La *nitrogénase*, enzyme bactérienne au molybdène, permet la fixation et l'assimilation d'azote atmosphérique, c'est-à-dire d'un élément qui, tel quel, ne sert à rien pour la majorité des êtres vivants. Des Bactéries fixant l'azote se trouvent en abondance dans les nodosités des racines de Légumineuses, et elles favorisent la croissance de ces plantes (symbiose).

Il faut insister sur le fait qu'un grand nombre d'enzymes comportent un métal dans leur groupement prosthétique : en fait, leur activité dépend directement de la présence de ce métal, c'est-à-dire de son existence dans la nourriture ou dans le sol.

Par contre, un excès de certains ions dans le milieu où vivent, par exemple, des animaux aquatiques peut entraîner une intoxication; ainsi, le cuivre de certaines peintures utilisées sur les bateaux peut empêcher la croissance d'animaux fixés sur les coques (bougis). On sait, par ailleurs, que des Poissons peuvent concentrer le mercure dans leurs tissus et provoquer l'intoxication de l'homme qui s'en nourrit, etc.

L'individu et la régulation minérale de la cellule

Nous venons de donner un aperçu de l'importance des éléments minéraux dans la cellule; or chez la plupart des êtres vivants, chaque cellule fait partie de tissus et d'organes dont le fonctionnement dépend de systèmes régulateurs hiérarchisés.

A l'échelle de l'individu, la régulation ionique ne s'effectue pas seulement au niveau de chacune des cellules qui le constituent; cette régulation dépend plus ou moins de *systèmes excréteurs* contrôlés par des *mécanismes hormonaux*. En particulier, l'édification d'un squelette complexe nécessite des conditions ioniques extrêmement précises.

Absorption et excrétion minérales

On sait que, chez les Vertébrés, des variations de la composition ionique du sang et du liquide interstitiel entraînent des troubles cellulaires graves. Le problème est beaucoup plus nuancé pour les autres groupes d'animaux ou pour les végétaux.

Chez les *Invertébrés marins*, les cellules sont adaptées au degré de minéralisation de l'eau dans laquelle ils vivent. Il faut le souligner : la composition ionique du milieu intracellulaire est en équilibre avec le liquide interstitiel, et ce dernier n'est pas très différent de l'eau de mer (Jost). Or, il y a des animaux qui ne supportent pas de grandes variations de salinité de l'eau (animaux *sténohalins*), alors que d'autres, moins nombreux, peuvent s'adapter à l'eau saumâtre comme à l'eau de mer normale, et même à l'eau sursalée des flaques supralittorales (animaux *euryhalins*). Dans le premier cas, l'adaptation cellulaire est faible, comme chez la plupart des Vertébrés. Dans le second cas, on peut avoir une importante modification de la pression osmotique des cellules lorsque la salinité se trouve modifiée (par exemple, chez les moules et autres animaux pœcilosmotiques). D'autres euryhalins côtiers n'ont pas un grand pouvoir de régulation osmotique; c'est le cas de *Carcinus maenas*, dont la concentration ionique intercellulaire devient intermédiaire entre



F. Albergoni

▲ ***Le molybdène est un oligo-élément entrant dans la composition d'une enzyme, la nitrogénase que l'on trouve dans les Bactéries fixatrices d'azote atmosphérique, qui vivent en symbiose dans les racines de Légumineuses où elles déterminent la formation de nodosités; ici nodosités d'*****Albizzia** ***contenant la Bactérie*** **Rhizobium leguminosarum.**

▼ ***Le cobalt entre dans la composition de la vitamine*** B_{12} ***observée ici au microscope à lumière polarisée après cristallisation.***

Nuridsany - Reichert





C. Rives - Marina - Cedri

▲ **Carcinus maenas** *(Crustacé) est un animal euryhalin protégé des variations de flux ionique par son tégument épais et par un mécanisme excréteur complexe.*

celle de l'eau de mer et celle de l'eau douce lorsqu'il pénètre dans un estuaire; le tégument, épais, réduit les flux, jouant le rôle de tampon; en outre, il existe, chez cet animal, une régulation complexe des flux ioniques, non seulement au niveau des cellules de tous les organes, mais surtout au niveau de *cellules excrétrices* d'organes bien particuliers qui ont une fonction prédominante. Il y a donc les euryhalins « souples », à cellules adaptables (moules), et ceux qui le sont beaucoup moins et qui ont besoin de systèmes de régulation plus puissants, organes excréteurs plus élaborés, capables de réduire les variations du milieu intérieur. Chez les *Poissons marins,* on constate que le rein devient un organe volumineux et complexe; important chez les Poissons marins osseux (Téléostéens), celui-ci l'est encore plus chez les Poissons cartilagineux (Sélaciens) dont le milieu intérieur est, pour certains ions, plus concentré que l'eau de mer.

Les animaux *d'eau douce* ont à faire face à un sérieux problème de dilution. La régulation osmotique et ionique peut être importante chez les Invertébrés; des systèmes excréteurs, plus ou moins complexes, se constituent chez les groupes les plus évolués. Chez les Vertébrés, les limites de tolérance sont étroites; les mécanismes et les organes d'excrétion sont toujours complexes. Ces animaux doivent arrêter la fuite de leurs éléments minéraux et limiter la pénétration d'eau. Chez les Téléostéens d'eau douce, qui sont extrêmement menacés par la dilution, le rein glomérulaire est d'une extrême importance : l'excrétion de l'eau se fait essentiellement au niveau des glomérules, petits pelotons vasculaires très nombreux, dont la surface d'échange est très grande.

Les *Oiseaux* et les *Mammifères,* animaux particulièrement évolués, ont une économie hydro-minérale excellente : leur peau est couverte d'une couche imperméable à l'eau, ce qui empêche toute influence du milieu extérieur; le tube digestif et surtout les reins sont capables de *réabsorber, selon les besoins,* une grande partie de l'eau que filtrent les glomérules; enfin, le métabolisme, toujours intense chez ces animaux à sang chaud, fournit aux cellules de grandes quantités d'eau après combustion intracellulaire des aliments. L'ensemble n'est pas simple mais très efficace. Notons que la réabsorption rénale de l'eau et les mouvements de l'ion sodium sont contrôlés par des facteurs hormonaux (par exemple, la vasopressine hypophysaire).

Chez les *végétaux,* nous savons que la racine absorbe l'eau et les sels minéraux indispensables à l'équilibre ionique de toute la plante et que chaque plante a un biotope préférentiel, un sol de « prédilection », où la répartition des ions correspond le mieux à ses besoins particuliers (plantes calcicoles, ou calcifuges, nitrophiles, etc.). Les plantes peuvent absorber des éléments *chélatés;* c'est le cas de l'atome de fer : enfermé dans une grosse molécule à un ou plusieurs cycles comparables à des pinces, il ne précipite pas dans le sol sous forme de rouille insoluble. Il reste ainsi disponible dans le milieu extérieur; puis il pénètre dans les cellules sous forme de chélat; la partie organique du chélat sera ensuite dégradée et le fer libéré. Dans le sol, les acides humiques sont chélateurs et protègent ainsi le fer utile à la plante.

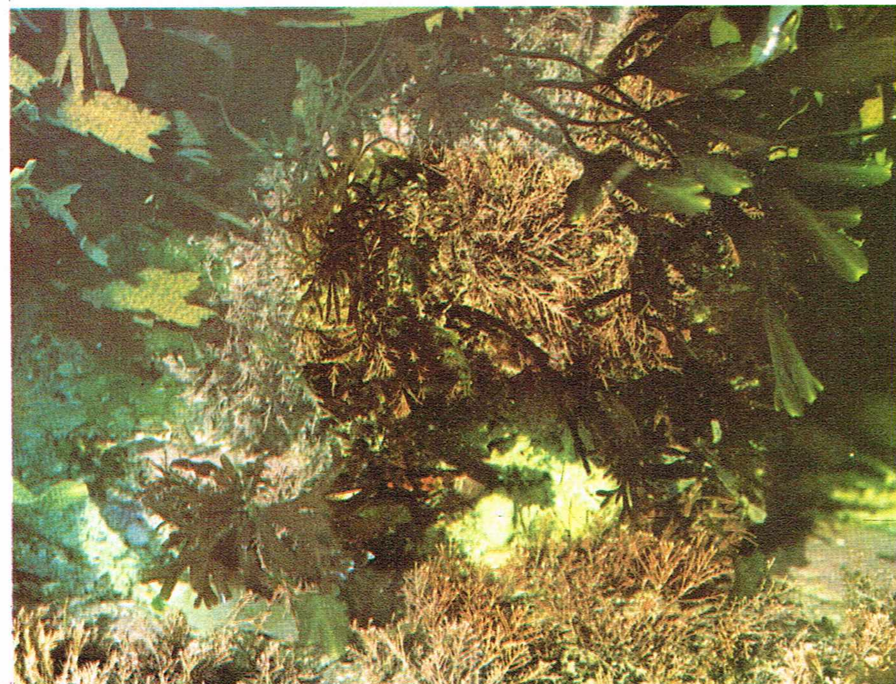
Chez les végétaux, on ne trouve pas d'organes excréteurs à proprement parler : parfois, toute la plante peut fonctionner comme un organe excréteur, selon des modalités différentes suivant les groupes. Chez les Phanérogames, la racine peut jouer un rôle particulièrement intéressant. C'est le cas du blé, qui, après l'épiaison, élimine du potassium au niveau des racines.

Cas particulier des éléments permettant l'édification d'un squelette

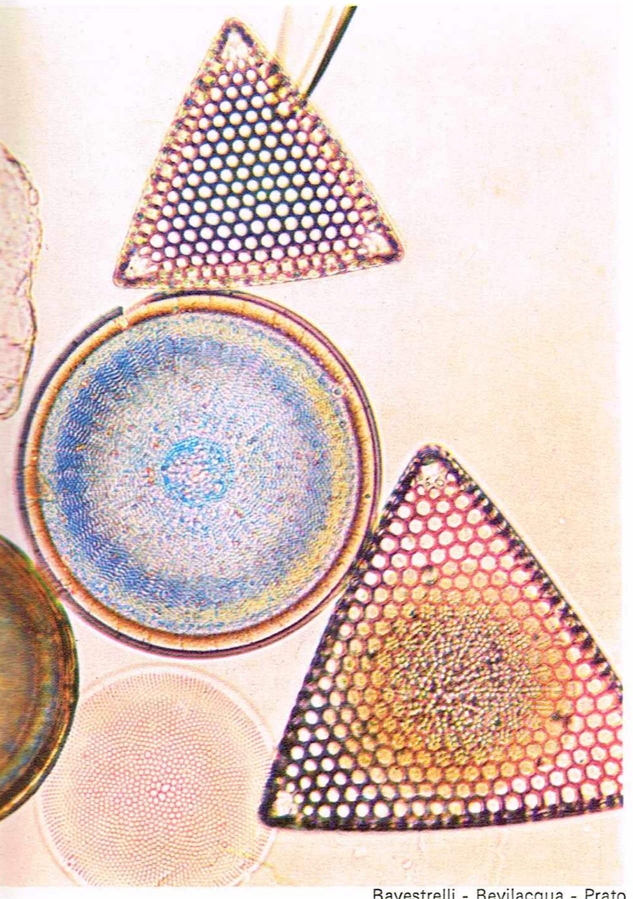
Le squelette peut être constitué de dérivés du *silicium.* C'est le cas des Algues telles que les Diatomées, dont le protoplasme comporte un exosquelette, ou *frustule;* c'est aussi le cas de Protozoaires Rhizopodes, comme les Radiolaires, qui se fabriquent un squelette d'une extrême délicatesse, ajouré, ornementé, très variable suivant les espèces et dont Haeckel a donné de très belles représentations. Chez les Métazoaires, la majorité des Éponges possède aussi un squelette de spicules siliceux. Ces groupes constituent à cet égard des cas très exceptionnels dans le monde vivant, et l'on a peu de données sur les caractéristiques biochimiques de ces squelettes et sur leur genèse.

Chez les Radiolaires, le squelette est de nature variable : silice, ou silicate de calcium ou d'aluminium. Il est de silice amorphe (non biréfringente) chez les Éponges. Selon P. Rietschel, on ne sait rien sur les lois qui régissent la formation de ces éléments de soutien. On peut se demander comment ces êtres, tous marins (à l'exception d'une partie des Diatomées), s'y prennent pour extraire le silicium de l'eau, pour le concentrer puis l'agencer de manière aussi complexe. Ces êtres vivants sont loin d'être négligeables car ils sont localement extrêmement abondants. Or, il est curieux de constater que tous sont considérés comme très primitifs; on peut faire la même remarque pour les prêles, végétaux terrestres dégénérés où le silicium, sous forme de silice, assure la minéralisation des membranes, ainsi que pour les charas,

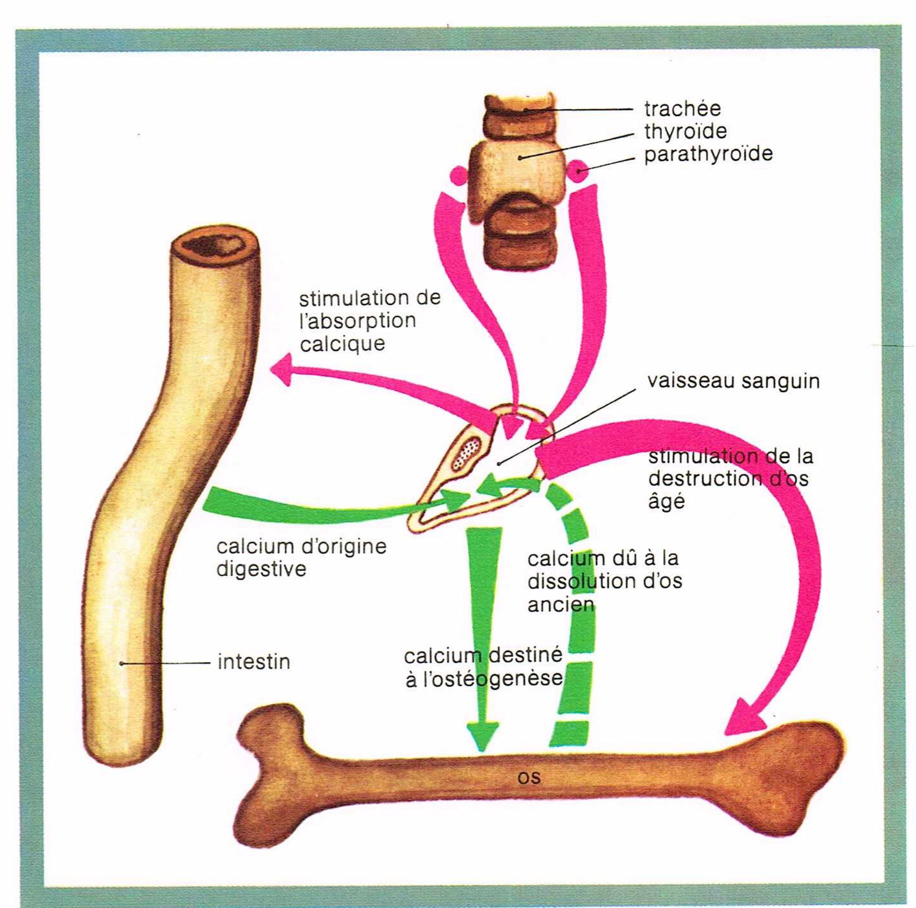
▼ *Le calcium entre dans la constitution du « squelette » des Algues calcaires. Ici, plusieurs espèces dans une flaque littorale (Atlantique).*



J. Bouchard



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato



R. Colin

▲ *A gauche, les Diatomées sont des Algues microscopiques munies d'un exosquelette (frustule) constitué de dérivés du silicium. A droite, édification de l'os grâce aux vitamines D_2 et D_3 et à l'hormone parathyroïdienne.*

ces Algues vertes qui peuvent envahir les mares ; peut-être n'est-ce là qu'une coïncidence, car certaines Monocotylédones comme les carex et surtout les Graminées ont des tissus qui comportent des concrétions siliceuses dont le rôle de soutien n'est pas négligeable.

En général, les éléments squelettiques sont constitués par des sels de *calcium* et de *magnésium*. Il peut s'agir de carbonates, de phosphates tricalciques chez les animaux et les Algues calcaires, ou d'oxalates, comme chez nombre de végétaux. Ces sels existent dans le squelette sous forme de précipités. Les Mollusques peuvent former une coquille, tandis que les Crustacés et les Échinodermes fabriquent une carapace tégumentaire ; le squelette interne, assez peu développé chez la plupart des Crustacés, est très remarquable chez les Vertébrés.

Les problèmes de physiologie cellulaire dont dépend la formation du squelette sont très divers. Selon Durand, seuls les minéraux solubilisés dans l'organisme répondent à des lois biochimiques générales.

Nous donnons ici quelques indications qui correspondent à des faits observés chez les Vertébrés. Auparavant, il faut noter que la formation du squelette, aussi bien chez les Mammifères que chez les Mollusques, est due à des produits de sécrétion de cellules spécialisées ; il ne s'agit pas d'une calcification intracellulaire.

Selon Williams, contrairement aux cations monovalents, Ca^{++} se fixe particulièrement sur les membranes des vésicules hyaloplasmiques ; au contact des cellules squelettogènes, Ca^{++} active les processus d'émission des sécrétions. L'ion joue un rôle de commutateur qui permet la mise en route du mécanisme squelettogène. Une *phosphatase alcaline* (une enzyme émise par les cellules) s'attaque alors aux molécules de phosphate dissoutes dans le milieu interstitiel : il y a hydrolyse (ou fragmentation) de ces molécules ; en conséquence, les ions PO_4^{---} sont en excès dans le liquide ; ils se combineraient au calcium *pour former un sel insoluble* (Robinson). Ensuite, a lieu la phase de modelage du squelette : le précipité de phosphate tricalcique se dépose au contact d'une matrice protéique sécrétée par les cellules ostéogènes : tout se passe comme si le précipité s'orientait et cristallisait.

Ces phénomènes sont sous la dépendance indirecte de 2 *vitamines*, la D_2 et la D_3, solubles dans les lipides (huiles et graisses). Ces vitamines ont un rôle direct dans le transport actif du Ca^{++} à travers l'intestin ; absorbé, cet ion passe ensuite dans le sang et est utilisé pour l'édification du squelette. D'autre part, ces vitamines permettent la destruction des parties les plus internes, les plus anciennes des os déjà formés, ce qui, indirectement, favorise la néoformation d'os jeunes périphériques. Ce phénomène est confirmé en utilisant du calcium marqué. Ajoutons que le *phosphore* suit les migrations du calcium.

De plus, une hormone, l'hormone parathyroïdienne, ou *parathormone,* stimule une partie des effets des vitamines, à savoir l'absorption intestinale du calcium alimentaire et le remaniement de l'os âgé, mais non directement l'ostéogenèse à partir du sang. Les mécanismes biochimiques permettant le transport actif sont de nature complexe ; on estime, en effet, que les vitamines modifient la perméabilité par voie génétique ; elles servent de messager pour déclencher, au contact des acides nucléiques, la synthèse d'une substance protéique spécifiquement chargée de modifier la perméabilité intestinale du calcium.

Chez les Vertébrés, groupe évidemment bien étudié, il reste encore des incertitudes quant à la façon dont se déroulent les processus biochimiques de l'ostéogenèse. De plus, des expériences ont montré que certaines régions du système nerveux (l'hypothalamus, le toit diencéphalique, voire l'épiphyse) peuvent influencer l'ossification (Thillard).

Bien sûr, les problèmes sont encore plus divers chez les Invertébrés. Par exemple, chez les Mollusques, à coquille externe généralement bien développée, la formation de ce squelette dépend de l'existence de phosphatases que l'on trouve en abondance dans le manteau. Mais on en trouve aussi en d'autres points du corps, et il semble que la mobilisation du calcium s'effectue un peu partout ; au niveau du manteau, l'apport de sels de calcium véhiculés par le sang permet la formation d'un précipité extracellulaire de carbonate et cela grâce à la participation d'une *série d'ions* et de *molécules protéiques.* Ce problème est très complexe (Grassé et Tétry) mais dépend directement de la balance ionique.

▶ *A gauche, un daim (Dama dama); chez les Cervidés, la croissance cyclique des bois nécessite un apport calcique important; leur chute est due à un déséquilibre phosphocalcique qui est sous la dépendance d'hormones. A droite, les stries d'accroissement bien visibles sur cette moule impliquent des variations de l'équilibre du calcium.*

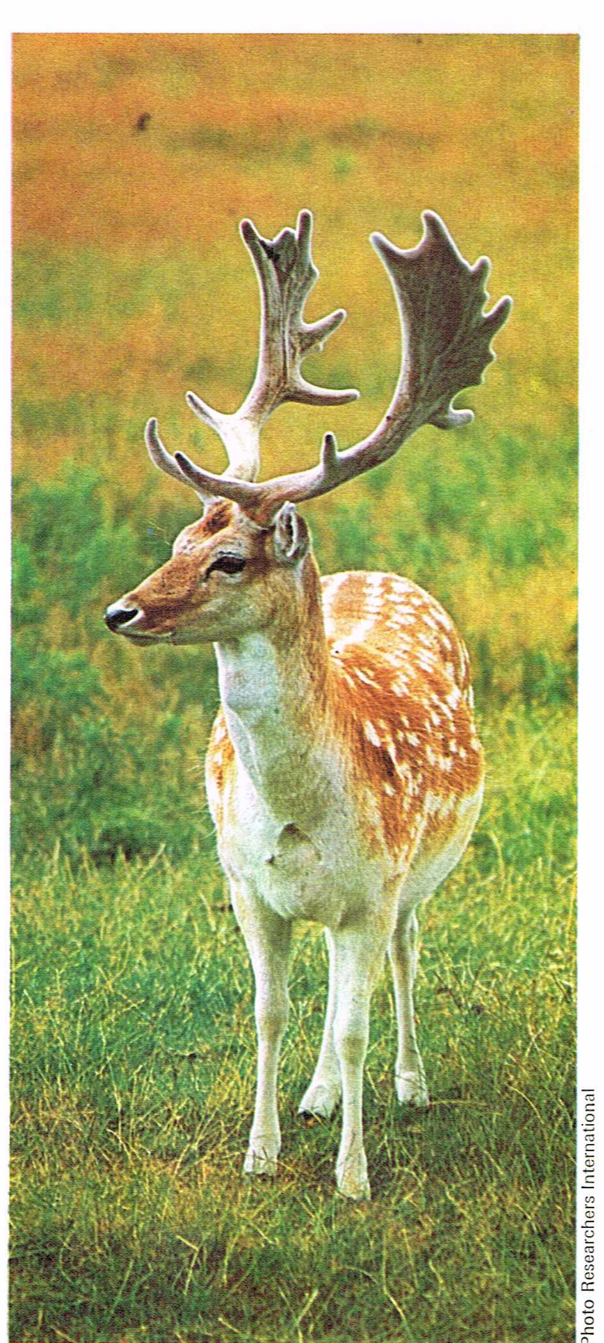


Photo Researchers International



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

Quelques exemples de troubles périodiques de l'équilibre du calcium

Les faons du cerf d'Europe sont dépourvus de bois, mais, dès le mois d'octobre, il se constitue chez les mâles, que l'on appelle des hères, des pivots osseux surmontant les frontaux; ils croissent, forment une dague et repoussent la peau qui persiste et constitue le velours; celui-ci, mal vascularisé, finit par tomber, et, à la fin de la deuxième année, la dague tombe également; dès que la cicatrisation est terminée, un second bois repousse à partir du pivot : il est plus grand que la dague; ainsi, d'année en année, les bois deviennent de plus en plus grands et de plus en plus robustes. Une telle croissance cyclique nécessite un apport calcique extrêmement important. Le mécanisme, qui a fait l'objet d'études expérimentales, est hormonal. On a constaté qu'un faon castré n'acquiert pas de bois; par contre, un adulte castré reconstitue des bois, peu développés et conservant leur velours; l'ensemble forme ce qu'on appelle une « perruque d'os ». Wislocki a montré, sur le cerf de Virginie, que la castration, au début de la croissance des bois, n'entraîne pas leur chute, mais seulement la conservation du velours; par contre, les bois tombent si la castration est opérée sur un animal à bois nus; le mécanisme est donc fort complexe. Il y a une combinaison des effets de deux types d'hormones : les hormones testiculaires et les hormones hypophysaires. Le déséquilibre phosphocalcique dont dépend l'ostéogenèse se produit durant la période de repos sexuel, au moment où les testicules sont inactifs; c'est seulement au début de l'hiver que la peau disparaît, c'est-à-dire au début de la phase de rut, au moment où les testicules s'accroissent.

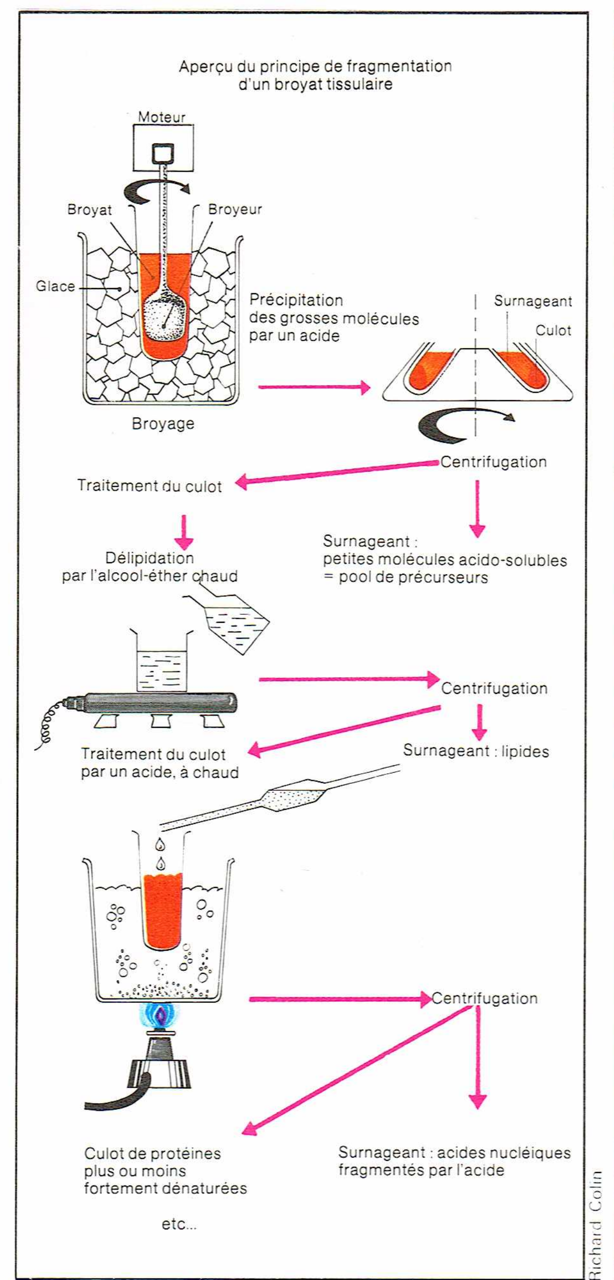
Un autre exemple, extrêmement intéressant, correspond non à l'hypertrophie d'un élément squelettique, mais à l'élimination d'énormes quantités de calcium lors de la ponte chez les Oiseaux. Citant le cas du pigeon, Jost parle d'une *mobilisation du calcium des os* qui, en période de ponte, provoque une calcémie 20 fois supérieure à la normale. En schématisant, la ponte utilise l'équivalent de 1/6 du calcium du squelette entier; cela implique un effort métabolique très intense.

Voici, très brièvement, la succession des phénomènes biochimiques impliqués dans la genèse de la coquille de l'œuf. Le calcium sanguin est lié à des molécules volumineuses; juste avant la ponte, il s'accumule dans les os, venant à la fois du sang et du tube digestif, où le transport actif intestinal devient plus intense. Cette *accumulation* dépend d'hormones œstrogènes synthétisées par l'ovaire, mais dépend aussi des parathyroïdes, ainsi que nous l'avons dit plus haut. A ce stade pré-ovulatoire, les travées osseuses sont très serrées et compriment le canal médullaire des os longs (os folliculinique). Après la ponte ovulaire se produit une véritable révolution physiologique : les os se dissolvent en partie, d'une manière très brutale, tandis qu'on observe une chute des œstrogènes sanguins; le calcium plasmatique devient surabondant, et l'utérus y puise le matériel nécessaire à l'élaboration de la coquille où s'accumule la calcite ($CaCO_3$).

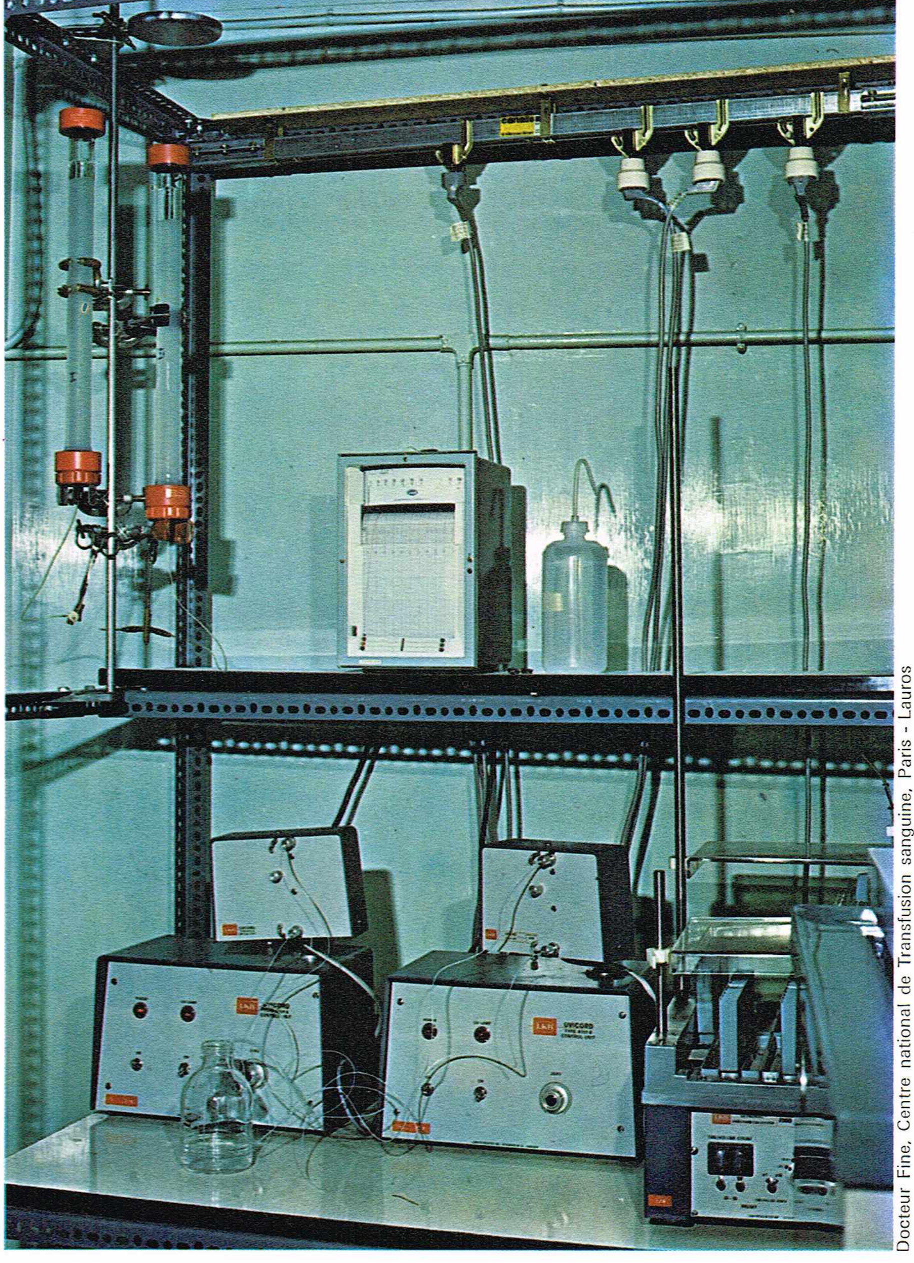
Ces exemples représentent des cas particulièrement frappants. Il faut cependant ajouter que les êtres vivants suivent des rythmes de croissance et d'activité qui peuvent impliquer des variations de l'équilibre du calcium ainsi que d'autres éléments minéraux; si ces variations sont en général discrètes, leur importance est grande pour l'individu. On en voit, par exemple, les traces sur une coquille de Mollusque : les stries d'accroissement périodique sont très souvent parfaitement visibles; chez la moule, le rythme essentiel est celui des marées (Le Gall).

BIBLIOGRAPHIE

DURAND M. et FAVARD P., *la Cellule,* Hermann, Paris, 223 p., 1967, 4e tirage : 1972. - FLORKIN M. et SCHOFFENIELS E., *Biochimie et Biologie moléculaire,* Desoer, Liège, 578 p., 1967. - GIESE A.C., *Cell Physiology,* Saunders Co, Philadelphie-Londres, 534 p., 1958. - KAYSER C., *Physiologie,* Éd. Médicales, Flammarion, 1963. - KRUH J., *Biochimie,* Hermann, Paris, 501 p., 1971. - KRUYT H.R. et OVERBEEK J. Th. G., *Initiation à la chimie physique,* Masson, Paris, 236 p., 1961.



Richard Colin



Docteur Fine, Centre national de Transfusion sanguine, Paris - Lauros

▲ ***L'analyse des constituants de la matière vivante nécessite une longue préparation préliminaire ; à gauche, les différentes étapes de ce travail. A droite, l'appareillage pour l'analyse par chromatographie de partage associé à un système de détection et d'enregistrement automatique.***

LES MOLÉCULES ORGANIQUES

Préambule technique. Avant de décrire les groupes de molécules fondamentales, il faut dire un mot des méthodes qui permettent de les mettre en évidence dans des broyats cellulaires.

Le *travail préparatoire du biochimiste*. L'analyse s'effectue en utilisant un *broyat* d'un organe aussi homogène que possible, c'est-à-dire contenant une seule catégorie de cellules ou du moins une catégorie dominante (par exemple, le foie, le cerveau, l'épiderme, etc.).

Le broyat est *centrifugé* à basse température. Pour une sédimentation des molécules moyennes, il faut aller jusqu'à 60 000 tr/mn. Les petites molécules se trouvent alors dans la partie supérieure (le *surnageant*) et peuvent être séparées des grosses molécules qui restent dans le fond du tube centrifugeur (le *culot*).

La *dialyse* est utilisée dans une seconde étape de fractionnement : elle s'effectue à travers une membrane non semi-perméable dont la porosité est connue (« boudin de dialyse »).

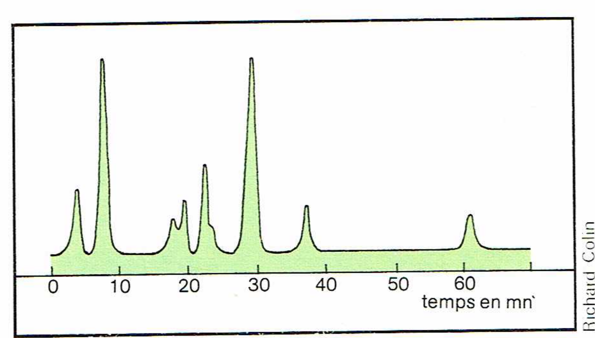
Les *fractions* que l'on obtient sont traitées séparément par des réactifs, qui vont *précipiter* certains types de molécules. Par exemple, un réactif A à large spectre chimique permet la précipitation de nombreuses espèces moléculaires ; on centrifuge à nouveau pour étudier séparément le *culot* et le *surnageant ;* d'une part, on traite le surnageant avec un second réactif B, plus sélectif, qui va seulement précipiter certaines molécules, etc. ; d'autre part, on traite le culot avec un réactif B' qui redissout le précipité ; puis, avec un réactif C, plus sélectif que A, on précipite certaines molécules, etc.

Chaque fraction, précipitée puis redissoute, peut être ensuite analysée par différentes méthodes.

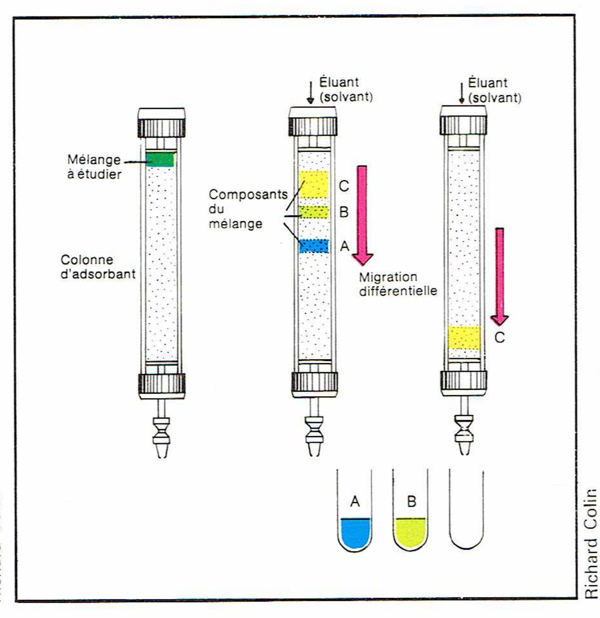
La *chromatographie*. Cette méthode a été mise au point au début du siècle par le botaniste Tswett. Celui-ci travailla sur les pigments végétaux ; en versant un extrait végétal dilué dans la partie supérieure d'une colonne de verre contenant du carbonate de calcium $CaCO_3$ finement pulvérisé, Tswett observa que différents pigments se répartissaient par *bandes* à l'intérieur de la colonne ; autrement dit, la migration de chaque type de pigment s'effectuait à une vitesse particulière. Des rinçages successifs permettaient alors à certains pigments de parcourir toute la colonne alors que d'autres demeuraient *adsorbés* aux particules de carbonate.

On donna, par la suite, le nom de chromatographie à cette technique qui permet, de la même façon, de séparer les constituants incolores d'un mélange chimique quelconque.

L'adsorption dépend de la *surface* d'adsorbant disponible pour les substances en solution. Lorsqu'une molécule se stabilise à un certain niveau de la colonne, on a un *équilibre réversible*. Il est possible d'établir des courbes représentant l'adsorption en fonction de la concentration de la solution. On parle *d'isothermes d'adsorption*, car les courbes diffèrent en fonction de la température.



Richard Colin



Richard Colin

▶ ***A droite, principe de la* chromatographie sur colonne *: les différents constituants du mélange migrent plus ou moins vite et sont récupérés successivement. A gauche, un exemple de* chromatogramme *obtenu grâce à un système de détection des constituants; à chaque pic de la courbe correspond une substance déterminée.***

L'adsorption est faible pour la plupart des éléments minéraux; elle est forte pour les chaînes organiques aliphatiques (chaînes linéaires) et très forte pour toutes les substances à noyau aromatique ou cyclique. Lorsque, dans une solution, les substances sont mêlées, chacune est moins adsorbée que si elle était seule; de plus, une substance très adsorbable freine les substances moins adsorbables : en d'autres termes, une petite quantité d'une substance très adsorbable peut inhiber l'adsorption de plus grandes quantités d'autres substances à coefficient d'adsorption inférieur. Signalons que cette notion, fondamentale en recherche, permet également de comprendre le phénomène qui se produit dans les empoisonnements par occupation de certains sites organiques par diverses substances : ainsi, l'uréthane, agent toxique (cancérigène chez la souris) peut empêcher l'adsorption du glucose au niveau cellulaire.

Lorsqu'elle est pratiquée à la façon de Tswett, la *chromatographie* est dite *de partage* puisque, sur deux substances contenues dans la colonne, l'une est adsorbée tandis que l'autre la parcourt. On utilise des adsorbants de nature diverse, et l'analyse d'une solution peut être faite sur plusieurs adsorbants, ce qui améliore les résultats : en effet, chaque substance dissoute peut avoir une affinité différente pour chacun de ceux-ci. On utilise couramment l'alumine, le phosphate tricalcique, la silice, le silicate de magnésium et le charbon. Il existe dans le commerce des produits dont les caractéristiques sont bien déterminées.

La *chromatographie sur papier* est fondée sur le même principe, mais elle est adaptée à l'étude de petites ou de très petites quantités de liquide. Un papier de type papier-filtre remplace la colonne; il est placé verticalement dans une enceinte saturée d'humidité. La solution à étudier est déposée en haut du papier; puis, à partir du bord supérieur, on imbibe le papier par capillarité avec un solvant organique, qui va progressivement descendre, entraînant préférentiellement les molécules à groupements hydrophobes, alors que les molécules essentiellement hydrophiles migrent beaucoup plus lentement; cette technique rappelle le système à colonne, mais elle a l'avantage de faire intervenir un facteur supplémentaire : l'affinité des molécules pour l'eau ou pour des solvants organiques (du type butanol par exemple). La méthode convient pour toutes les familles de molécules organiques.

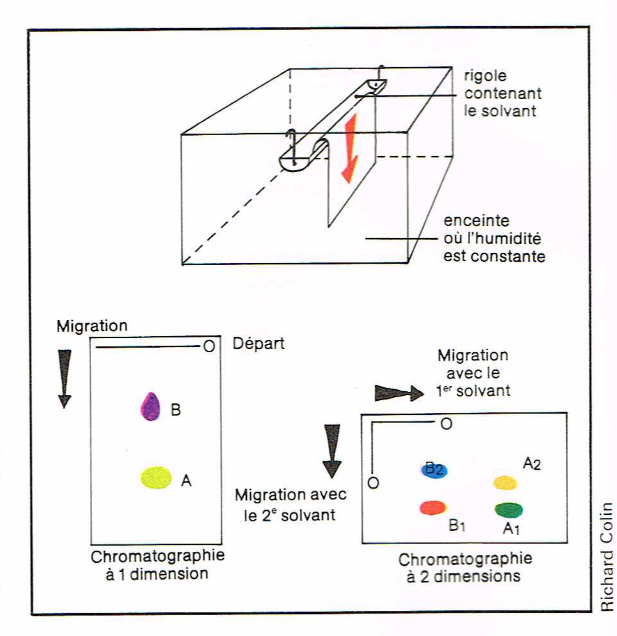
Pour mettre en évidence les molécules entraînées, on a recours à des procédés de *révélation physique* ou *chimique*. Dans le premier cas, on utilise souvent l'éclairage ultraviolet, qui donne une série de taches de lumière visible au niveau de chacun des composants de la solution entraînés sur le papier; c'est la révélation par *fluorescence*. Dans le second cas, on utilise, par exemple, la *ninhydrine*, qui permet de colorer les éléments azotés tels que les acides aminés, qui deviennent ainsi visibles en lumière blanche.

On peut améliorer l'analyse en reprenant la feuille du chromatogramme, en la faisant tourner de 90°, et en recommençant l'opération avec un *second solvant* organique; le nouveau solvant entraîne les taches suivant une nouvelle verticale et d'une manière qui n'est jamais exactement identique à celle du solvant initial. On a donc un *chromatogramme à deux dimensions*, très nettement affiné par rapport au premier : en effet, deux substances qui étaient confondues en une seule tache avec le premier solvant peuvent être séparées avec le second.

Voisine de la chromatographie sur papier, la *chromatographie sur couche mince* permet d'obtenir des résultats encore un peu plus précis : on utilise plusieurs types de couches poreuses, véritables émulsions coulées sur des plaques de verre.

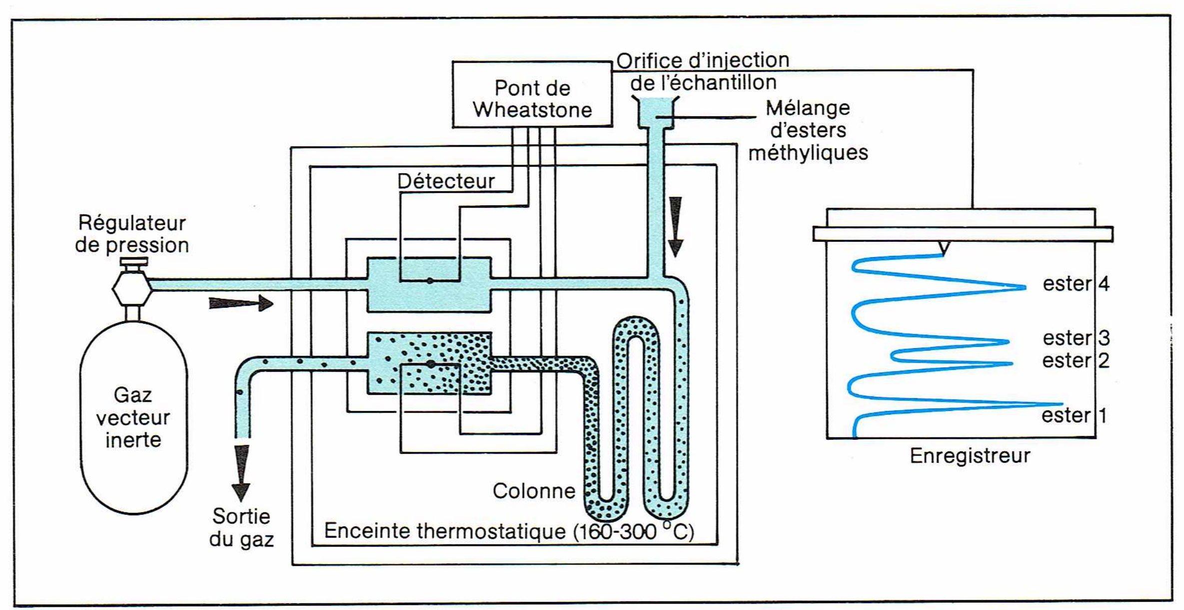
Dans une méthode chromatographique assez différente des précédentes, on a recours à un *tamis moléculaire* (« gel-filtration »). L'adsorbant, utilisé dans une colonne, est constitué par des molécules organiques, les dextranes, qui sont des polymères de glucides; la sélection se fait en fonction de la taille des molécules, et parfois de leur poids moléculaire.

La *chromatographie sur résine échangeuse d'ions* mérite une brève description. Dans le cas d'une *résine cationique,* les cations de la solution prennent la place des radicaux Na^+ de la résine; dans le cas d'une *résine anionique,* les anions en solution s'échangent avec les OH^- ou les Cl^-. Les ions fixés sont ensuite décrochés en

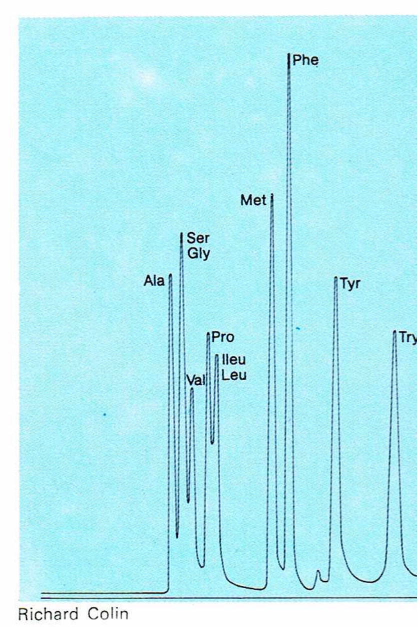


Richard Colin

▶ ***Principe de la* chromatographie sur papier*; dans ce cas, le solvant entraîne la solution à étudier qui a été préalablement déposée sur un papier-filtre (en haut); on obtient une* chromatographie *à une dimension; en faisant tourner le papier d'un angle de 90°, et en utilisant un deuxième solvant, on peut réaliser une* chromatographie *à deux dimensions; celle-ci permet une analyse plus fine. A_1, A_2, B_1, B_2 correspondent aux quatre produits contenus dans le mélange initial.***



Richard Colin



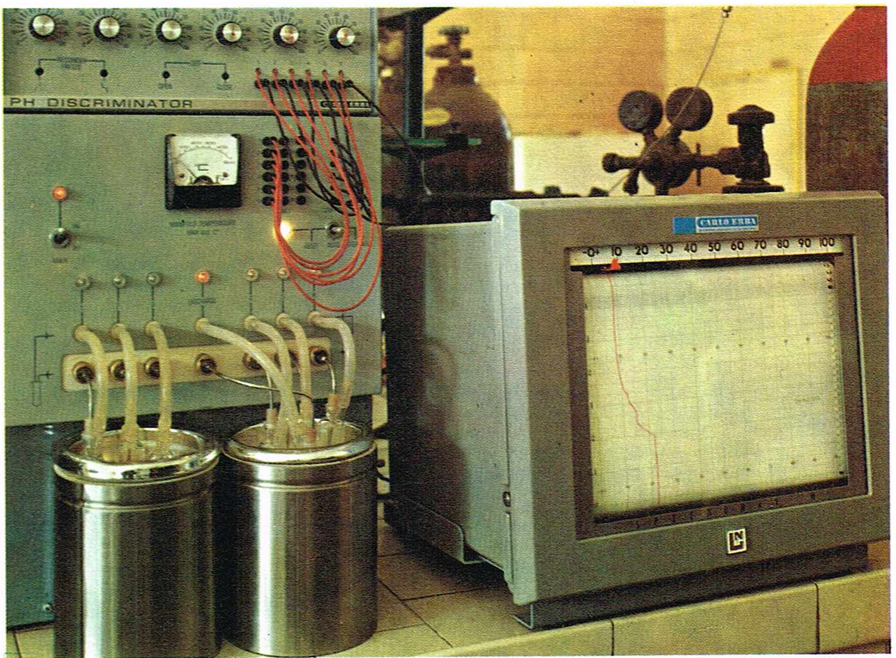
Richard Colin

versant un *éluant* dont le pH est lentement modifié : ils sont *entraînés séquentiellement*. Les fractions recueillies successivement permettent l'analyse du liquide biologique. Cependant, Kruh note que les solutés s'adsorbent partiellement aux particules de la résine, ce qui rend l'interprétation des résultats délicate.

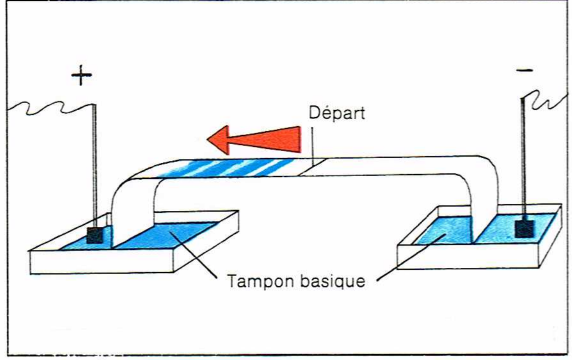
Enfin, on peut effectuer des *chromatographies en phase gazeuse*. Par exemple, pour déterminer la composition d'un extrait en acides gras constitutifs des graisses, on prépare une solution d'esters méthyliques de ces acides ; ils sont volatils et peuvent être entraînés à chaud (entre 160 et 300 °C) par un gaz inerte (l'argon ou l'hélium par exemple), dans une colonne contenant un liquide également inerte adsorbé à une poudre de silicone ou de polyéthylène glycol. A la sortie de la colonne capillaire, un système de détection automatique permet d'enregistrer la succession des différents esters ; en effet, ces derniers migrent plus ou moins vite dans la colonne suivant leur affinité pour le gaz ou le liquide inerte. C'est, en phase gazeuse, une variante de la chromatographie de partage.

L'*électrophorèse*. L'analyse des constituants d'un liquide biologique peut être faite en entraînant les molécules grâce à un courant électrique : en effet, leur vitesse de migration dépend de leur charge propre. La technique, perfectionnée en Suède par Tiselius, permet des études très précises sur certains groupes de molécules, en particulier sur les divers acides aminés constitutifs des protéines. On travaille souvent entre 2 et 4 °C pour éviter les perturbations dues aux courants de convection. Cette méthode, très précise, permet de déterminer non seulement la composition d'un mélange, mais aussi le poids de chacun des constituants.

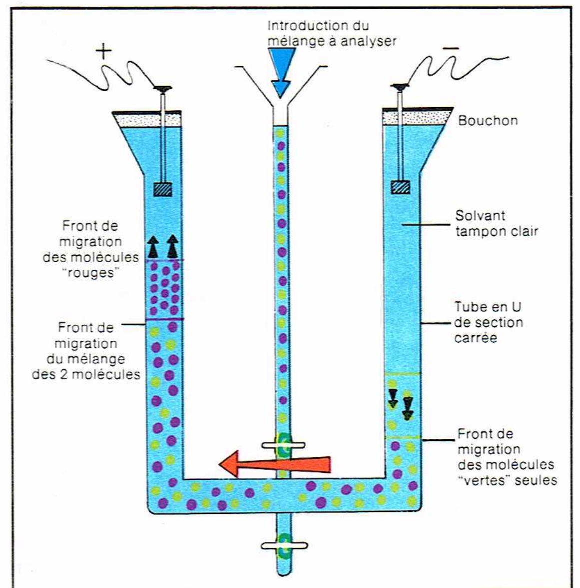
La migration des molécules peut être analysée grâce à une méthode optique fondée sur le fait que les molécules en transit modifient l'indice de réfraction du liquide. On obtient directement une image aisément photographiable du train de molécules (Toepler).



A. Rizzi



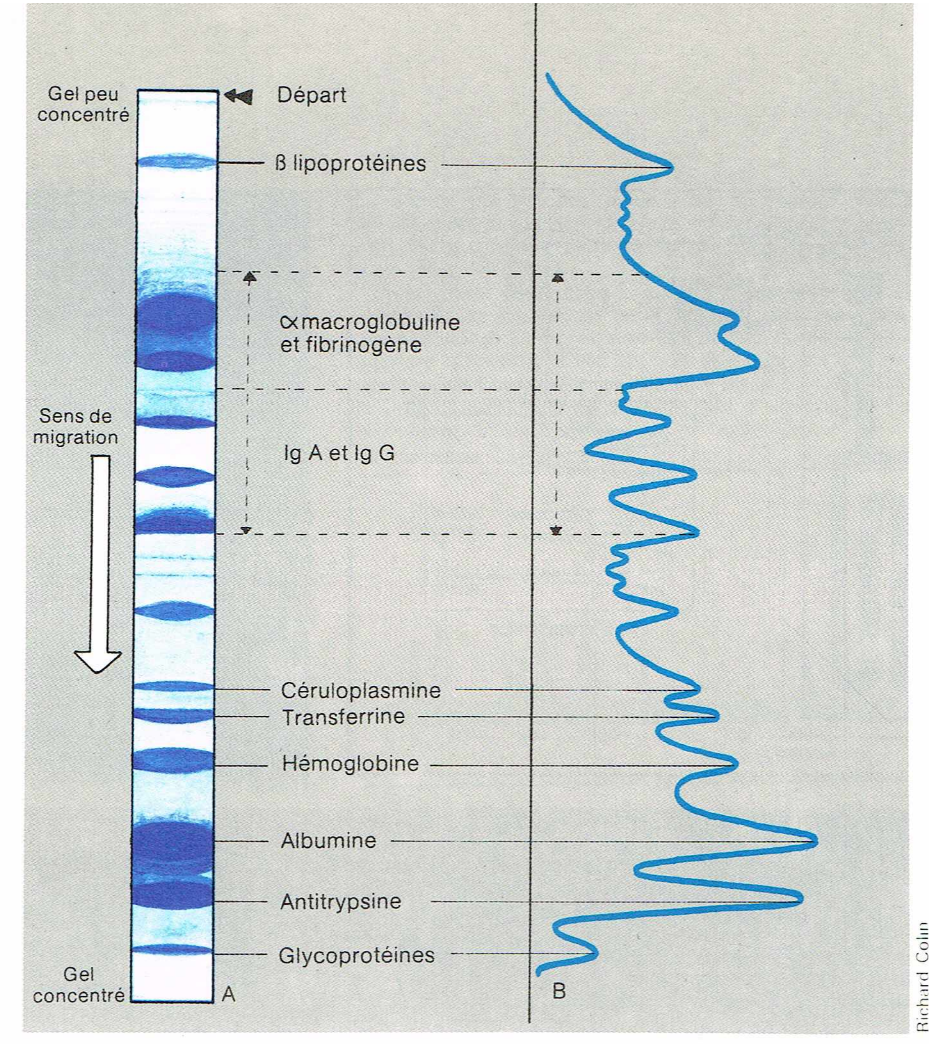
Richard Colin



Richard Colin

▲ ***En haut, à gauche, principe de la chromatographie en phase gazeuse ; à droite, résultat de l'analyse d'un mélange d'acides aminés obtenu par cette technique ; chaque pic de la courbe correspond à un acide aminé déterminé.***
En bas, détail de l'appareillage nécessaire à la chromatographie en phase gazeuse : sur la gauche, les récipients servant à la récolte des constituants ; à droite, l'enregistreur automatique.

◀ ***Principe de l'électrophorèse sur papier (à gauche) et selon la méthode de Tiselius (à droite) : dans un tampon basique les substances chargées négativement migrent vers l'anode (+).***



Richard Colin

▲ *L'électrophorèse peut s'effectuer sur du papier recouvert d'un gel de polyacrylamide de concentration croissante : on parle d'électrophorèse « gradipore » (A). Les résultats sont traduits sous forme de courbe (B).*

L'*électrophorèse sur papier* est une variante très employée. Il suffit de tremper une bande de papier dans un solvant, puis d'ajouter à une extrémité le mélange à étudier ; on fait ensuite passer un courant dans l'axe du papier : les substances migrent en formant des bandes parallèles, lesquelles sont ensuite révélées. Il existe des systèmes perfectionnés qui permettent d'obtenir automatiquement une traduction graphique des séries de bandes colorées.

L'*électrophorèse sur fil* permet d'analyser de très petits volumes de liquides biologiques.

La *spectrophotométrie d'absorption*. Cette technique sert non seulement à doser ou à identifier une substance, mais aussi à mettre en évidence une réaction. Elle est fondée sur le fait qu'une solution colorée absorbe en fait la couleur complémentaire. La lumière utilisée est issue d'un monochromateur, et le rayonnement sera plus ou moins absorbé dans la solution colorée. L'absorption est mesurée grâce à un spectromètre (Beer et Lambert).

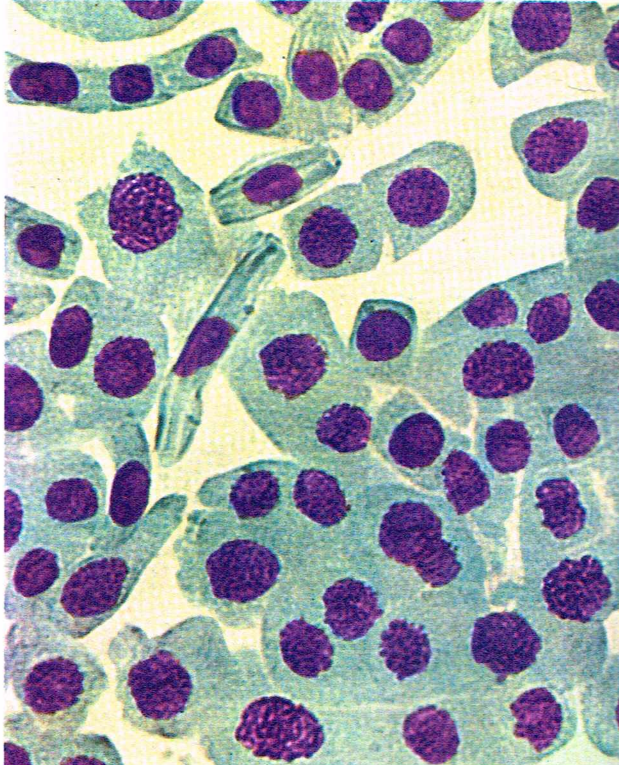
Kruh note que cette technique est devenue l'une des principales méthodes de dosage, car elle permet de travailler sur des *solutions incolores*, en utilisant les longueurs d'onde de l'ultraviolet que peuvent donner les monochromateurs à arc de mercure ou au xénon. Cette méthode permet aussi de doser les produits d'une réaction. Il est toutefois plus délicat de rechercher la composition d'un mélange, d'identifier ses constituants. Or, on sait que les substances biologiques absorbent électivement une ou plusieurs longueurs d'onde du visible et surtout de l'UV. Des appareils modernes très perfectionnés permettent d'obtenir des enregistrements graphiques sous forme de courbes d'absorption très détaillées. En comparant avec des courbes de référence correspondant à des substances connues, il est possible d'identifier la nature des constituants du mélange ; en effet chacun de ceux-ci implique un ou plusieurs pics d'absorption caractéristiques.

Les méthodes qui viennent d'être évoquées sont d'un intérêt très général ; c'est pourquoi elles ont été citées avant l'étude des substances elles-mêmes. Il existe d'autres techniques qui sont adaptées à des molécules particulières ; nous les signalerons ultérieurement.

Par ailleurs, il existe en *histochimie* de très nombreuses techniques qui permettent de mettre en évidence tel ou tel type de substance observable au microscope dans la cellule fixée, voire dans la cellule vivante.

▼ *A gauche,* spectrophotométrie d'absorption. *Cette technique de dosage est fondée sur le fait que les substances absorbent électivement une ou plusieurs longueurs d'onde de la lumière visible et de l'ultraviolet ; à droite : on peut doser par cytophotométrie certaines substances chimiques colorées sur coupes histologiques. Cas de l'ADN après réaction de Feulgen.*

A. Rizzi



C. Bevilacqua

Nuridsany - Reichert

LES GLUCIDES

D'après Heller, les glucides représentent généralement de 50 à 80 % du poids sec des végétaux. La proportion est moins forte chez les animaux. On connaît bien les *sucres,* dont la saveur est très caractéristique. On les désignait autrefois sous le terme d'hydrates de carbone et les Anglo-Saxons parlent de carbohydrates, ce qui, somme toute, est une caractérisation approximativement valable puisque leur formule brute ne comporte que du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène : $C_n(OH_2)_m$. Cette formule est valable pour les *oses,* ou sucres simples, ainsi que pour les *holosides,* polymères des oses, mais pas pour les *hétérosides,* lesquels comportent d'autres éléments.

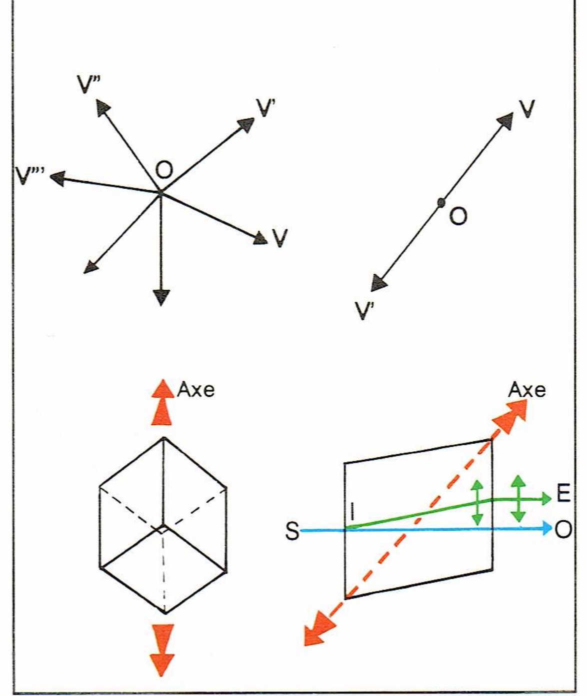
Les oses

L'ose le plus répandu dans la cellule et le plus connu est le *glucose ;* celui-ci est très abondant dans le miel. On l'utilise parfois pour faire des confitures, car il est de saveur moins sucrée que le saccharose du commerce, lequel est un diholoside. Les botanistes l'appellent sucre de raisin.

Les oses ne peuvent pas être hydrolysés ; il ne s'agit donc pas de polymères et ce sont des glucides simples. Ils forment des cristaux. Leurs solutions ont des propriétés optiques dont il est nécessaire de parler : elles modifient un faisceau de lumière polarisée. Ces propriétés permettent de déterminer la nature d'un ose ou de le doser en solution.

Rappel de la notion de lumière polarisée

La lumière polarisée est un rayonnement lumineux dont la vibration s'effectue dans *un seul plan* de l'espace, alors que la lumière qui vient du soleil ou qui sort d'un monochromateur vibre dans tous les plans de l'espace orientés suivant l'axe de propagation. La lumière non polarisée correspond à des vibrations transversales : en schématisant, on considère des vibrations rectilignes qui « changent de direction dans le plan perpendiculaire au rayon un grand nombre de fois par seconde » (M. Curie). On peut obtenir un rayonnement qui ne vibre que dans un seul plan : c'est *la lumière polarisée rectiligne*. Nous allons voir à présent comment divers cristaux sont capables de transformer la lumière en lumière polarisée.



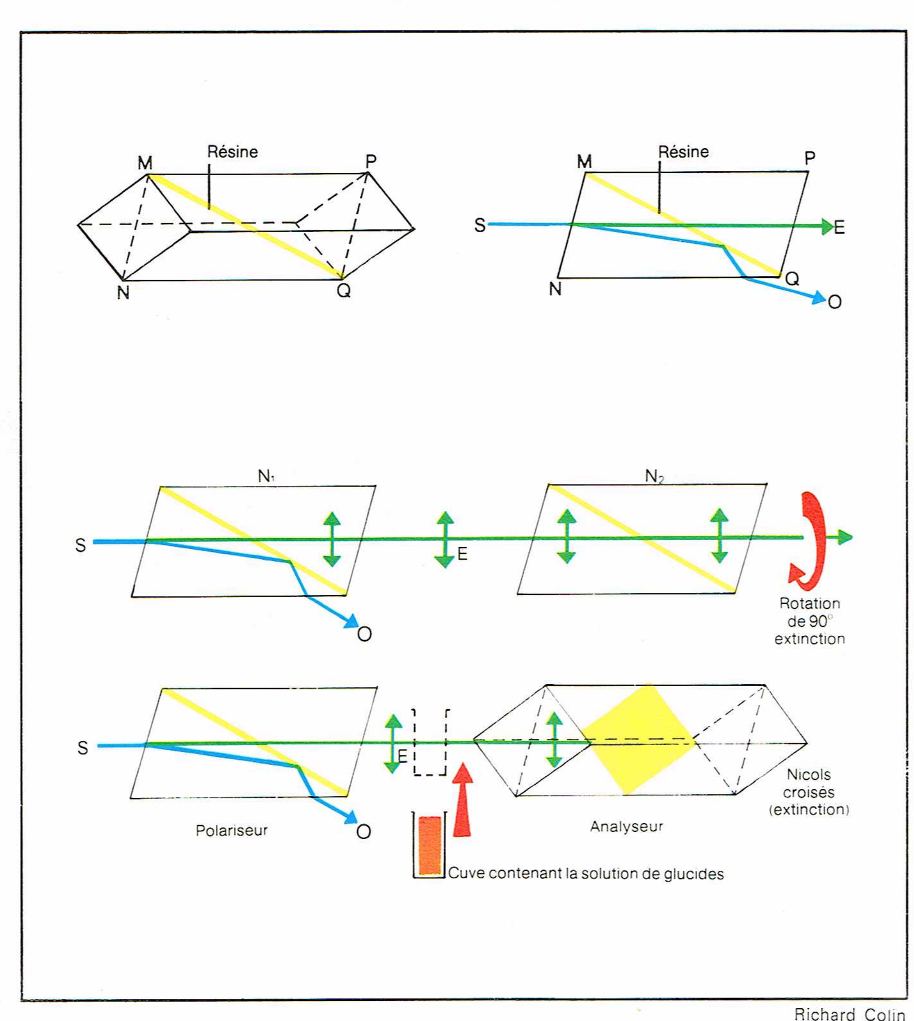
Richard Colin

Pour observer la *double réfraction à travers un cristal,* on choisit un grand cristal de *spath d'Islande* (calcite très transparente) ; celui-ci appartient au système cristallin rhomboédrique : c'est un cube étiré suivant une de ses diagonales (il a donc six faces losangiques égales) ; cette diagonale devient l'axe optique du cristal. Un objet observé à travers un cristal ou une lame de spath donne deux images ; il y a donc, au sein du cristal, deux modes de cheminement des rayons lumineux.

▲ Les glucides représentent de 50 à 80 % du poids sec des végétaux et un peu moins dans le cas des animaux. Le glucose, observé ici en lumière polarisée, est un des sucres les plus répandus.

◄ En haut, représentation schématique des vibrations de la lumière ; la lumière non polarisée (à gauche) vibre dans tous les plans passant par l'axe optique O ; la lumière polarisée (à droite) vibre dans un seul plan. En bas, à gauche, un cristal de spath d'Islande, à six faces losangiques égales servant à l'obtention de lumière polarisée ; à droite, trajet d'un rayon lumineux dans le spath : SO, rayon ordinaire ; SE, rayon extraordinaire.

Le schéma (p. 61) montre qu'un rayon SI normal à l'une des faces donne : d'une part, un rayon SO qui n'est pas dévié, le *rayon ordinaire,* qui suit les lois de l'optique géométrique ; d'autre part, un rayon SE, ou *rayon extraordinaire,* nettement réfracté. On a une image ordinaire et une image extraordinaire d'un objet S. Le cristal permettant de les obtenir est dit *biréfringent* ou *anisotrope*. Or, les rayons qui traversent le spath sont polarisés : on a pu montrer que la vibration du rayon ordinaire se fait dans un *plan perpendiculaire au plan de figure,* alors que la vibration du rayon extraordinaire se fait dans le *plan de la figure ;* pour disposer d'un seul type de rayonnement polarisé, il faut éliminer l'autre...



Richard Colin

▲ ***Obtention de la lumière polarisée selon la méthode de Nicol, qui utilisait pour cela un cristal de spath.***

Pour obtenir un *faisceau de lumière polarisée,* il y a plusieurs méthodes ; la plus intéressante est celle de Nicol. Pour cela on taille le cristal de spath suivant un plan perpendiculaire au plan MNPQ de la figure (ci-dessus) et passant par MQ. On recolle les deux moitiés en utilisant une résine naturelle d'indice convenable, le baume du Canada. A travers le cristal ainsi reconstitué mais truqué, on fait passer un faisceau de lumière venant de la source S. En entrant dans le spath, ce faisceau se dédouble comme précédemment ; le rayonnement ordinaire est réfracté dans le spath et subit la *réflexion totale* en atteignant le baume ; par contre, le rayon extraordinaire traverse le baume, l'autre moitié du cristal, puis ressort ; on a donc un seul faisceau de lumière polarisée à la sortie du cristal, et la vibration se fait dans le plan de la figure.

Le faisceau de lumière polarisée peut être éliminé en utilisant un second cristal placé sur le même axe que le premier. En effet, si le plan de collage du second nicol N_2 (passant par MQ) est *perpendiculaire* au plan correspondant du premier nicol N_1, le système élimine le rayonnement transmis par N_1. Par contre, la lumière polarisée traverse N_2 si le plan de collage est parallèle à celui de N_1. On a donc une extinction avec des *nicols croisés* dont l'un a été tourné de 90° par rapport au premier.

Influence des glucides sur la lumière polarisée

Les cristaux des glucides sont biréfringents. De plus, les solutions possèdent un *pouvoir rotatoire ;* en effet, si l'on place entre des nicols croisés une cuve plate à faces parallèles, contenant la solution à étudier, la lumière polarisée traverse le second nicol, ou nicol analyseur ; pour obtenir de nouveau l'extinction, il faut tourner l'analyseur d'un certain angle, vers la droite ou vers la gauche ; cet angle dépend de la nature du glucide que l'on étudie.

Arago mit en évidence, en 1811, le pouvoir rotatoire de certaines substances, en utilisant des lames de quartz placées entre les nicols. En 1815, Biot découvrit que certains liquides possédaient également cette propriété. Par contre, la plupart des substances liquides ainsi que les substances amorphes, telles que le verre ou certains cristaux, n'ont pas ce pouvoir rotatoire. En fait, celui-ci est réservé aux cristaux et aux molécules qui présentent une *dissymétrie* (c'est-à-dire dont l'arrangement doit être tel qu'ils ne soient pas superposables à leur image donnée par un miroir plan). Tous les cristaux sont dans ce cas et sont biréfringents sauf les cristaux du système cubique (par exemple, le diamant), car l'image spatiale d'un cube est également un cube, superposable au premier.

Avec certaines substances douées de pouvoir rotatoire, il faut tourner l'analyseur vers la droite pour avoir l'extinction ; on les appelle *dextrogyres* (+) ; avec d'autres, dites *lévogyres* (—), l'extinction s'obtient en tournant l'analyseur vers la gauche. Pour une substance dextrogyre, il existe un *isomère* lévogyre dont les propriétés chimiques sont les mêmes, alors que les propriétés biologiques sont différentes en général. Ces isomères sont dits *énantiomorphes* (du grec *enantios,* qui signifie contraire) ou, plus simplement, *inverses optiques*. Dans un cristal, on peut avoir une combinaison équimoléculaire des deux inverses ; cette combinaison donne une forme *racémique*. L'étude de ces formes a été effectuée par Pasteur entre 1848 et 1858 ; celui-ci démontra l'existence des inverses et la nature du racémique en triant sous la loupe des cristaux d'acide tartrique ; dans le cas du fructose, sucre abondant dans les fruits, il utilisa une autre technique : la levure de bière consomme préférentiellement le fructose dextrogyre naturel ; si on lui fournit le racémique, elle s'attaque au sucre dextrogyre et l'élimine ; il reste donc l'isomère lévogyre... Tous les oses comportent deux formes énantiomorphes à pouvoir rotatoire spécifique.

Pour doser les sucres, on peut utiliser un *saccharimètre,* polarimètre qui rappelle le système précédent. On utilise aussi le *polarimètre Laurent,* plus complexe mais fondé sur le même principe.

Nature chimique des oses

La formule brute des oses peut être déterminée par combustion. La molécule est une chaîne non ramifiée ; chacune comporte à la fois une fonction aldéhydique CHO et une ou plusieurs fonctions alcooliques dont une fonction alcool primaire CH_2—OH.

L'ose le plus simple, ou *biose,* comporte deux atomes de carbone ; on l'appelle aldéhyde glycolique :

$$\begin{array}{ccccc} & & H & & H \\ & & | & & | \\ OH & — & C & — & C \\ & & | & & \| \\ & & H & & O \end{array}$$

Il existe toute une série d'oses de poids moléculaire plus élevé. Ils sont constitués par adjonction de *n* fois $\begin{array}{c} H \\ | \\ —C— \\ | \\ OH \end{array}$ entre les deux carbones du biose. Cette adjonction peut être effectuée par le procédé de Kiliani (ose + CNH → nitrile alcool, qui, hydrolysé puis réduit, fournit un ose enrichi d'un carbone).

Le premier ose obtenu, un *triose,* comporte *deux formes énantiomorphes,* l'une dextrogyre, l'autre lévogyre. C'est le glycéraldéhyde (la glycérine comporte aussi trois carbones).

Ces énantiomorphes sont affectés du signe correspondant à leur pouvoir rotatoire ; on les désigne, de plus, par les lettres D et L.

La méthode de Kiliani permet d'obtenir un *tétrose* qui comporte quatre formes : les deux énantiomorphes venant du D (+) glycéraldéhyde gardent devant leur nom la lettre D, mais sont alors D (+) et D (—) ; il en va de même pour les deux isomères optiques venant du L (—) glycéraldéhyde : ils sont L (+) et L (—). Les lettres désignent donc leur origine par rapport au triose et les signes leur pouvoir rotatoire. Ces conventions s'appliquent également aux autres oses.

A partir des quatre tétroses, on peut obtenir un *pentose* avec *huit formes* isomériques ; deux d'entre celles-ci correspondent aux *riboses,* dont l'importance biologique est fondamentale puisqu'ils entrent dans la constitution des acides nucléiques, molécules supports de l'information génétique. De la même manière, on obtient *seize formes* isomères pour l'*hexose ;* deux d'entre ces formes correspondent au *glucose,* qui est l'ose le plus abondant de la cellule. C'est également ainsi qu'on synthétise les formes de l'*heptulose* à sept carbones.

Ces oses peuvent exister sous deux états chimiques : nous venons d'évoquer l'existence d'une série *d'aldoses* pour lesquels il n'y a qu'un alcool primaire et, à l'autre bout, un radical aldéhyde ; or il existe aussi une série de *cétoses,* isomères des aldoses et qui ont deux fonctions alcool primaire et une fonction cétone C = O. Comme on le voit, la diversité des oses est importante. Signalons que la nomenclature des oses a été établie par Wohl et Freudenberg.

Les oses sont, tout compte fait, les molécules organiques les plus simples, et cependant nous voyons qu'ils peuvent avoir un nombre important d'isomères.

La question de la structure des oses n'est pas épuisée ! En effet, les molécules en solution possèdent une structure qui n'est pas celle que l'on vient de donner... Jusqu'à présent nous avons vu des molécules linéaires ; cependant, en solution, les *molécules se cyclisent,* et la fonction aldéhyde qui est à l'une des extrémités (1) sert à « boucler la boucle » : il se forme un *pont oxygène* entre les carbones 1 et 3 pour les tétroses, 1 et 5 pour les hexoses. En conséquence, la fonction aldéhyde du sucre disparaît dans les formes cycliques. En solution, il y a trois formes : la forme linéaire, de D glucose par exemple, qui ne représente qu'une petite partie de l'ensemble ; le D glucose α et le D glucose β cycliques, qui sont des formes abondantes.

Ces formules (Tollens) ont seulement une valeur didactique : le *pont oxygène,* entre les carbones 1 et 5, donne à la molécule une forme qui rappelle le *noyau pyran ;* c'est pourquoi on parle, dans ce cas, non de glucose, mais de *glucopyrannose* (Haworth).

Enfin, il existe une *forme instable* des oses qui correspond à un autre type de formule cyclique : il s'agit des *furannoses,* où le pont oxygène se situe entre 1 et 4. On parlera, par exemple, du D (+) glucofurannose, forme α ou forme β. Seuls les pentoses ont une forme furanose stable (par exemple, le ribose).

Nous avons donné les caractères essentiels de la structure chimique des oses ; celle-ci n'est pas simple, mais il était important de souligner que la stéréochimie des substances organiques joue un rôle fondamental dans leur activité physiologique.

La recherche des oses

Il existe diverses réactions colorées permettant de caractériser certains oses ; ces réactions, obtenues avec des phénols, permettent aussi le dosage. Les sucres réducteurs (aldoses essentiellement) peuvent aussi réagir avec des métaux lourds et donner un précipité.

Au cours des visites médicales, on utilise couramment ce principe pour mettre en évidence les glucides dans les urines.

La solution bleue de liqueur de Fehling (sulfate de cuivre en milieu alcalin) donne un précipité rouge brique d'oxyde de cuivre quand on la chauffe en présence d'un ose réducteur de l'urine. Ce type de réaction se produit avec divers sels de métaux lourds : l'ose réduit le sel en libérant le métal ou en provoquant la formation d'un oxyde.

La chromatographie sur papier permet de déterminer la nature des sucres d'une solution. La révélation se fait par le nitrate d'argent ammoniacal qui précipite à chaud après sa réduction par les oses (aldoses) ; on compare ensuite avec des chromatogrammes témoins faits avec des sucres connus.

Trioses

Glycéraldéhyde (+) dextrogyre D	Glycéraldéhyde (−) lévogyre L
$H - C_1 = O$	$H - C_1 = O$
$H - C_2 - OH$	$HO - C_2 - H$
C_3H_2OH	C_3H_2OH

(chiffres en rouge : numéro des carbones ; **2**, **carbone asymétrique**).

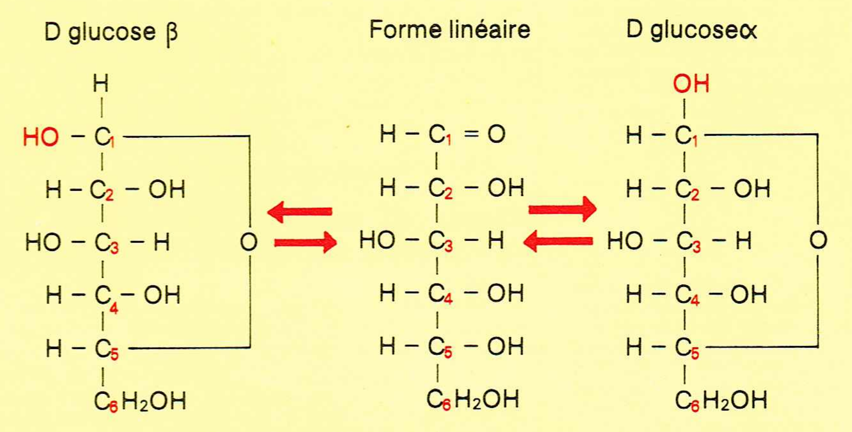
4 formes de tétroses

Série D		Série L	
D(+) érythrose (dextrogyre)	D(−) érythrose (lévogyre)	L(+) thréose (dextrogyre)	L(−) thréose (lévogyre)
H − C = O	H − C = O	H − C = O	H − C = O
H − C − OH	HO − C − H	H − C − OH	HO − C − H
H − C − OH	H − C − OH	HO − C − H	HO − C − H
CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH

par rapport au triose : niveau du nouveau carbone (kiliani)

D aldothréose (Tétroses)		D cétothréose	
H − C = O	fonction aldéhyde	CH_2OH	fonction alcool primaire
OH − C − H		C = O	fonction cétone
H − C − OH		H − C − OH	
CH_2OH		CH_2OH	

Structures de la molécule de D glucose (théorique)

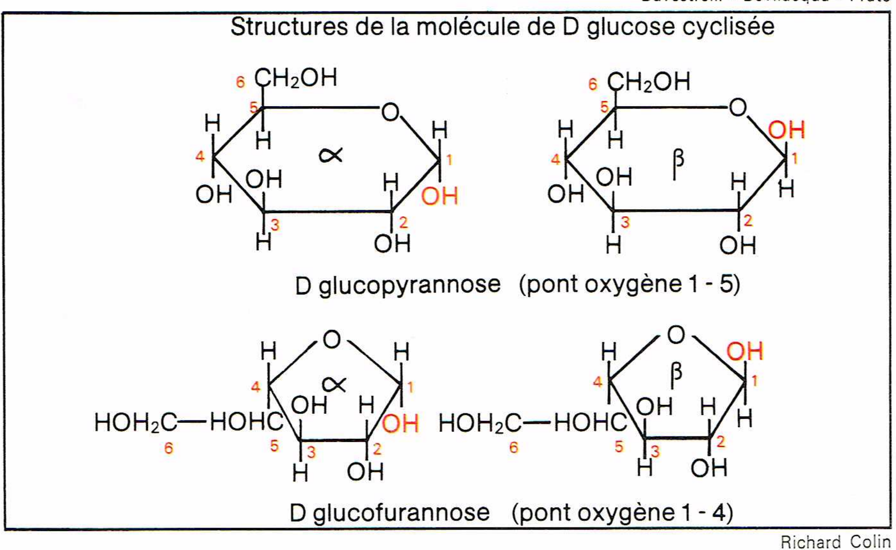


Chiffres en rouge : numérotation des carbones

Richard Colin

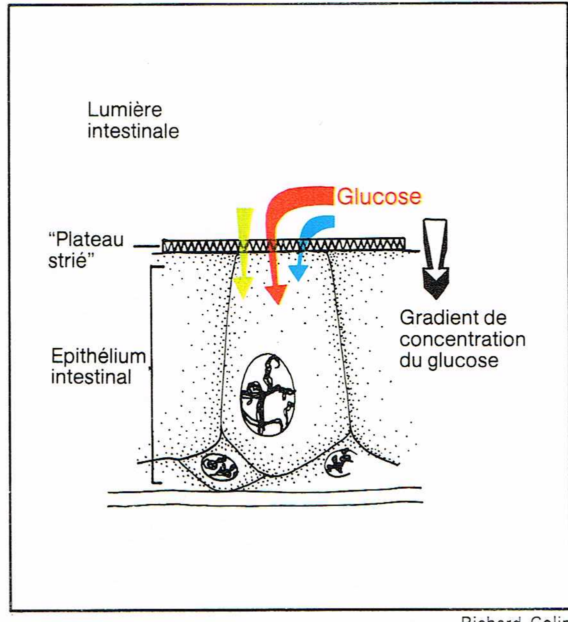


Bavestrelli - Bevilacqua - Prato



Richard Colin

▲ *En haut, les oses sont des substances largement répandues que l'on trouve en grande quantité dans les fruits; dans les dattes (fruit de* **Phoenix dactylifera**) *le glucose représente 32 % du poids frais et le fructose 24 %.*



Richard Colin

▶ *Absorption sélective du glucose au niveau des cellules de l'intestin : en vert et en bleu, deux isomères du glucose qui pénètrent moins bien que ce dernier; la pénétration des oses, qui s'effectue selon le gradient de concentration des sucres, n'est pas un transport actif, mais une diffusion facilitée.*

Les oses dans la nature

Les oses sont des substances très largement répandues. En particulier, le *glucose* constitue le *combustible* essentiel pour l'activité cellulaire puisqu'il fournit, en se dégradant et en se fragmentant, l'énergie nécessaire à la synthèse des molécules les plus diverses. Il peut être stocké dans les cellules végétales : il constitue 32 % du poids frais des dattes, 8 % de celui des raisins et 1,6 % de celui des tomates; il s'agit du *D* (+) *glucopyranose*. Par ailleurs, le *D* (—) *fructose,* ou sucre de fruit, représente 24 % du poids des dattes, de 7 à 8 % du poids frais des poires, des pommes et des cerises; on en trouve également dans le sperme, bien que ce sucre soit peu abondant chez les animaux. Le *galactose,* plus fréquent chez les animaux, se trouve cependant aussi chez les végétaux, dans les gommes et les mucilages. Quant au *ribose* et au *désoxyribose,* ils entrent dans la constitution des acides nucléiques responsables de la coordination des synthèses et de la transmission des caractères génétiques.

Les animaux absorbent des glucides avec leur nourriture; quand il s'agit de sucres complexes, ils sont dégradés pour obtenir des oses, puis absorbés par les cellules; les glucides sont stockés : il s'agit généralement de sucres polymérisés pour former le glycogène.

Les plantes peuvent synthétiser les oses en utilisant l'énergie solaire, l'eau et le gaz carbonique de l'air (c'est la photosynthèse, particulière aux plantes pourvues de pigments chlorophylliens). Elles peuvent stocker un polymère du glucose, l'amidon; de plus, la cellulose des parois squelettiques est aussi du glucose polymérisé.

Passage des oses dans la cellule animale

Au niveau membranaire, le glucose est rapidement absorbé par les cellules; ce phénomène fut mis en évidence, dès 1898, par Conheim sur des anses isolées d'intestin de chien. En 1902, Nagano découvrit que l'absorption est sélective, c'est-à-dire qu'elle n'est pas égale pour les isomères du glucose tels que le galactose ou le mannose. De 1956 à 1959, Crane et Wilson ont montré que la structure D pyranose était un des facteurs essentiels de pénétration des oses dans la cellule.

L'absorption des sucres nécessaires pour le métabolisme a pu être considérée comme un transport actif dépendant du degré d'activité respiratoire de la cellule (Fisher et Parson, 1949). En 1957, en faisant varier la température, Papadopoulos et Roe ont montré *in vitro,* avec des cultures de tissus, que l'absorption d'un ose se fait à la même vitesse que la phosphorylation des hexoses en présence d'ATP, donc à la même vitesse que le métabolisme. On estime maintenant qu'il ne s'agit pas d'un véritable transport actif mais d'une *diffusion facilitée,* la pénétration dans les cellules s'effectuant dans le même sens que le gradient de concentration des sucres (Benoit).

Principe de la synthèse des oses dans les cellules végétales. La photosynthèse

La synthèse des oses dans les cellules végétales dépend directement de la présence de *chromoprotéines*. Les pigments chlorophylliens sont les plus importants; le groupement prosthétique de la *chlorophylle* a un noyau porphyrique magnésien rappelant celui de l'hémoglobine. Il existe une chlorophylle *a* et une chlorophylle *b*. La chlorophylle est responsable de la coloration verte des végétaux, c'est-à-dire que le spectre d'absorption de la chlorophylle est maximal dans le rouge. Le mécanisme sera vu plus précisément en étudiant les phénomènes qui se déroulent au niveau des plastes colorés de la cellule végétale.

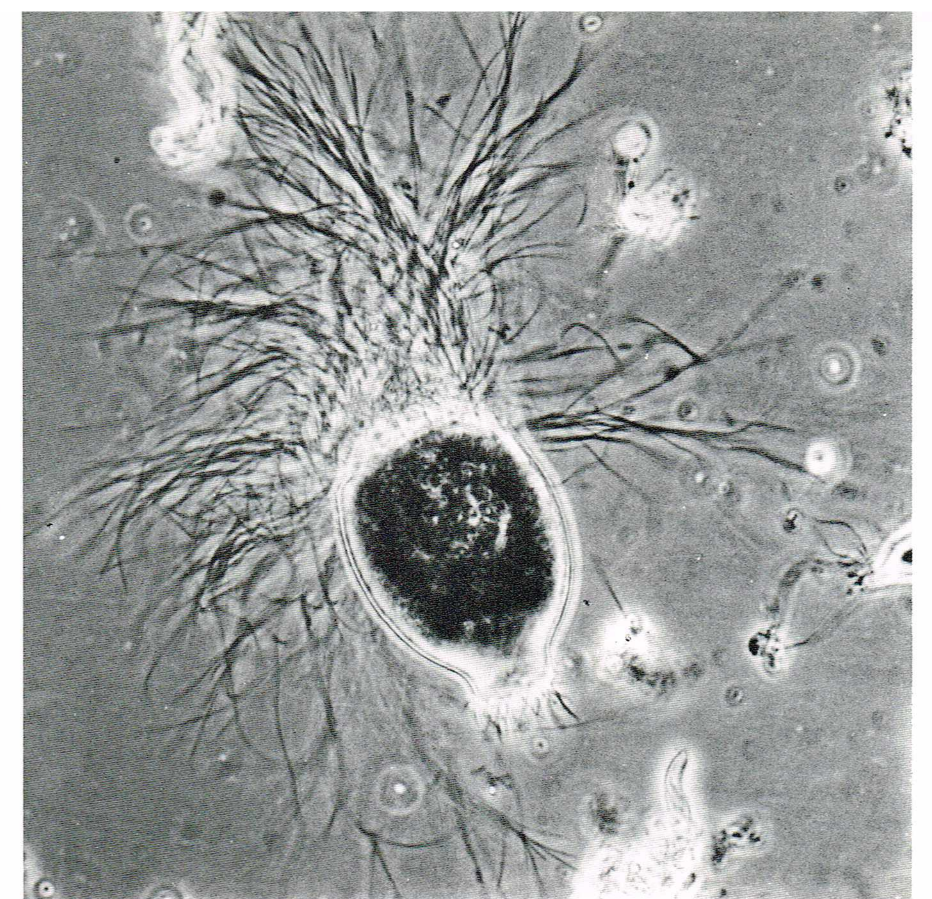
Les holosides à petites molécules

Constitués de deux ou trois molécules, on les appelle encore des *oligosaccharides*. Deux ou trois molécules d'oses se condensent en perdant une ou deux molécules d'eau.

Le **saccharose** est abondant dans la canne à sucre, la betterave, la carotte, etc. Son hydrolyse donne une molécule de D (+) glucose α et une molécule de D (—) fructose β. Leur liaison se fait au niveau des groupements réducteurs; le saccharose n'est donc pas réducteur. La



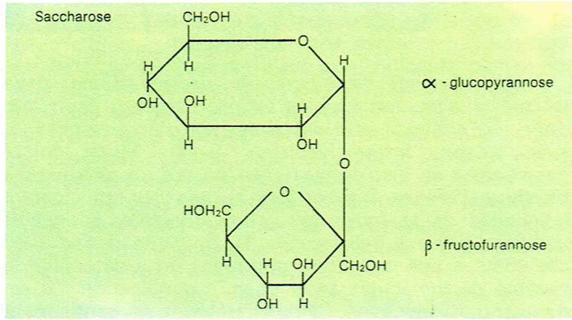
L. Garbison - Fotogram



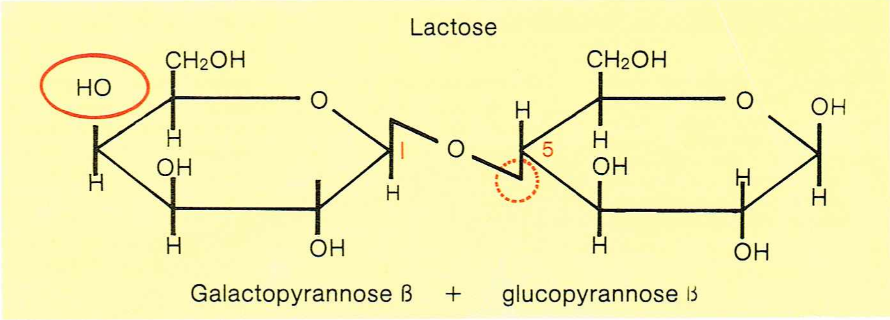
G. Frizzi

◀▲ *A gauche, des touffes de canne à sucre, Graminée dont la tige contient une solution de saccharose à 5 %. A droite, un Protozoaire Flagellé vivant en symbiose dans le tube digestif du termite* **Calotermes lucifugus,** *permettant ainsi la dégradation de la cellulose ingérée par ce dernier.*

canne à sucre (Graminée) a une tige, ou chaume, remplie d'une moelle constituée de cellules dont la vacuole contient du saccharose en solution. Il suffit de presser le chaume pour en extraire le jus de canne, qui contient 5 % de saccharose ; ce dernier est centrifugé et cristallisé. Les cellules du tubercule de betterave à sucre contiennent aussi du saccharose, que l'on extrait par percolation par l'eau chaude.



Richard Colin



Richard Colin

Le saccharose ne pénètre pratiquement pas dans les cellules animales vivantes ; chez les Vertébrés, une enzyme digestive l'hydrolyse au niveau de l'intestin, ce qui permet donc l'absorption des oses libérés.

Chez les Insectes, l'hémolymphe qui constitue le fluide sanguin, assez pauvre en cellules, contient une grande quantité de **tréhalose,** glucide formé par condensation de deux molécules d'α glucopyrannose.

Le **maltose** ne diffère du tréhalose que par un détail puisque c'est un diholoside fait d'α et de β glucopyranose. Il est important du point de vue alimentaire : il résulte, en effet, de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon exogène et se transforme en glucose en présence d'une enzyme intestinale : la *maltase.* Un mécanisme de même nature se produit chez les végétaux : au moment de la germination, l'amidon endogène se transforme en maltose.

Le **cellobiose** vient de l'hydrolyse de la cellulose ; il est, par conséquent, important dans la nutrition de tous les animaux mangeurs de bois, c'est-à-dire les xylophages, tels que les tarets, qui possèdent une enzyme : la *cellulase,* capable de fournir le diholoside. Il est également important pour d'autres xylophages (Longicornes, etc.) ou pour les termites et les Ruminants ; dans ces deux derniers cas, des Ciliés ou des Bactéries vivent en symbiose dans le tube digestif et digèrent la cellulose en libérant le cellobiose, qui sera ensuite dégradé puis utilisé par l'hôte.

Le **lactose,** sucre du lait, n'a pas une saveur très sucrée. Il est fait d'une molécule de D glucopyrannose β et d'une molécule de D galactopyrannose β. Son importance est relativement grande : on en trouve de 4 à 7 % dans le lait de vache.

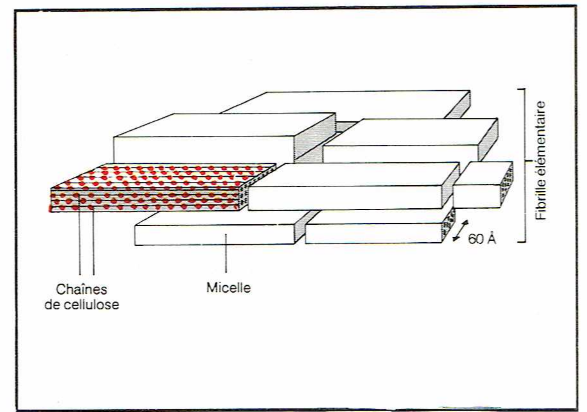
A part le saccharose, tous ces diholosides sont réducteurs puisque leurs molécules constitutives sont liées en 1—4, ce qui laisse un aldéhyde libre. Il existe aussi des triholosides mais d'importance biologique réduite : le **raffinose** et le **gentianose.**

Les holosides à grosses molécules, ou polysaccharides, ou polyosides

Il en existe plusieurs types, suivant la nature des molécules de base ; les plus importants sont les polyglucoses.

La **cellulose** forme, chez les végétaux, de très longues *chaînes de molécules* de D (—) glucopyrannose ; ces chaînes ont de 600 à 12 000 Å de long et sont réunies en *faisceaux* d'environ 60 Å de diamètre, appelés micelles, elles-mêmes réunies en *fibrilles élémentaires* groupées en *microfibrilles* d'environ 100 Å ; ces microfibrilles sont encore associées en *fibrilles* de 0,1 à 1 μ de diamètre. Les fibrilles forment soit des réseaux, soit des systèmes hélicoïdaux dans les membranes primaires des cellules

végétales. Dans les membranes secondaires de certaines cellules, présentant, entre autres, la particularité d'être étirées et portant le nom de *fibres,* les fibrilles se regroupent en trois zones, sous forme de systèmes hélicoïdaux pouvant tourner en sens inverse les uns des autres et dont le pas est serré ou lâche. Ces fibres, formées par la cellule, se trouvent dans la tige du lin et au niveau de longs poils unicellulaires, sur les graines du cotonnier.

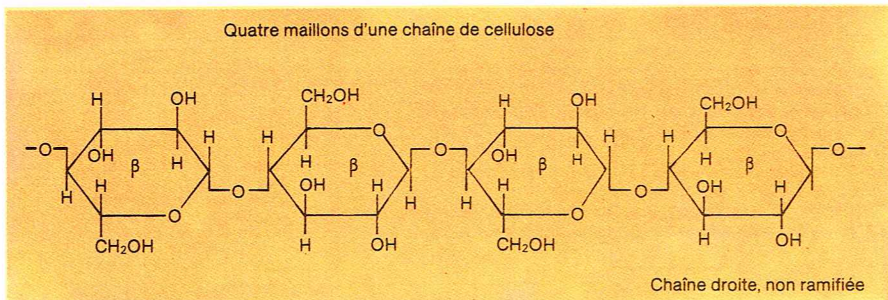


Richard Colin



P. Castano

▶ *A gauche, structure et disposition des micelles constituant une fibrille élémentaire de cellulose. A droite, grains d'amidon de tubercule de pomme de terre, colorés par l'iode (× 500).*



Richard Colin

▲ *Détail de la macromolécule de cellulose; cette chaîne non ramifiée compte de 2 000 à 3 000 molécules de glucose dans le cas de la fibre de coton et seulement 250 pour le bois.*

Dans le cas du coton, la macromolécule de cellulose, non ramifiée, comporte de 2 000 à 3 000 molécules de glucose; dans la cellule du bois, elle en compte seulement 250 unités. Le degré de polymérisation a pu être estimé par une méthode d'analyse viscosimétrique (Einstein), nécessitant une mise en solution de la cellulose. Le poids moléculaire des celluloses a pu être confirmé par des méthodes plus récentes mais plus complexes. La chaîne n'est *pas ramifiée;* par méthylation et hydrolyse, on obtient des tri- et des tétraméthyl-glucose.

En hydrolysant partiellement la cellulose en milieu acide, on peut observer une propriété intéressante de petits polymères, les **glucosanes;** en présence d'iode (solution de $I_2 + IK$), ces polymères se colorent en bleu. Ainsi, on peut constater que les parois cellulosiques de la graine de datte, particulièrement épaisses, sont constituées par des emboîtements de couches alternativement claires et foncées, donc par un squelette cellulosopectique complexe (nous reviendrons sur cette coloration caractéristique des polymères glucosidiques). La synthèse de la cellulose par la cellule n'est pas un phénomène simple, et il a fallu attendre que la méthode des traceurs radioactifs soit mise au point pour commencer à mieux en comprendre le mécanisme.

La **callose,** macromolécule végétale voisine, est formée par des glucoses β liés en 1—3. En hiver, la callose oblitère les tubes criblés, empêchant la circulation de la sève élaborée.

L'**amidon,** abondant dans la pomme de terre et dans tous les féculents, est répandu chez la plupart des végétaux et même chez les micro-organismes. Il constitue des grains insolubles dans le hyaloplasme. C'est une substance formée à partir des oses de la photosynthèse et mise en réserve dans la cellule. L'hydrolyse ne donne pas de cellobiose, mais du maltose et, enfin, du D glucose. La méthode viscosimétrique montre qu'il s'agit d'un polymère de 100 à 2 000 molécules qui forment un ensemble *ramifié* comme on peut le constater par méthylation et hydrolyse : on obtient du diméthylglucose.

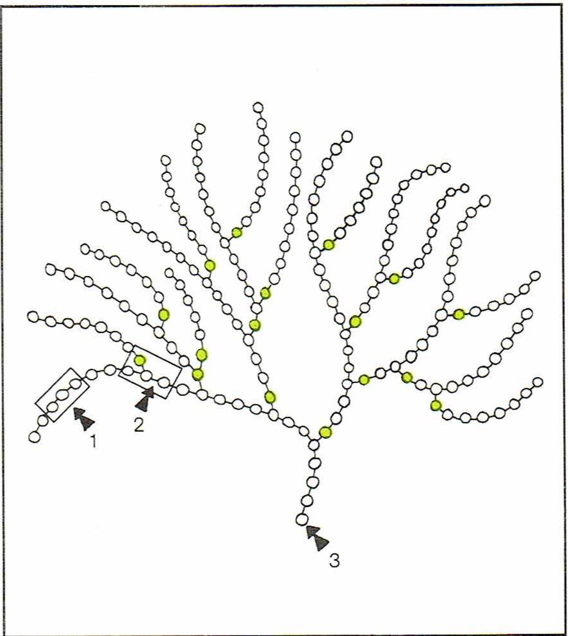
En fait, il existe *deux types de macromolécules* dans les grains d'amidon visibles au microscope : l'*amylose,* dont les chaînes sont linéaires (D glucopyranose α, avec liaisons intermoléculaires 1—4); l'iode colore ces chaînes en bleu foncé (c'est en fait un phénomène physique, l'iode se logeant dans les espaces qui séparent les unités de la molécule); l'*amylopectine,* à chaînes ramifiées grâce à des liaisons 1—6; l'iode donne avec ces chaînes une coloration pourprée; on a déterminé le nombre de molécules entre chaque ramification : il est d'environ 10 glucoses. Certains amidons ne contiennent que des chaînes ramifiées d'amylopectine : c'est le cas du riz et du maïs. On a découvert ces dernières années que ces molécules sont spiralées.

L'hydrolyse de l'amidon est d'une grande importance, à la fois pour la mobilisation des réserves lorsque le besoin s'en fait sentir pour le végétal et pour la nutrition des animaux : c'est le cas de l'homme, mais aussi de tous les omnivores ou herbivores, sans oublier les xylophages, qui digèrent non seulement la cellulose, mais aussi l'amidon mis en réserve dans le bois.

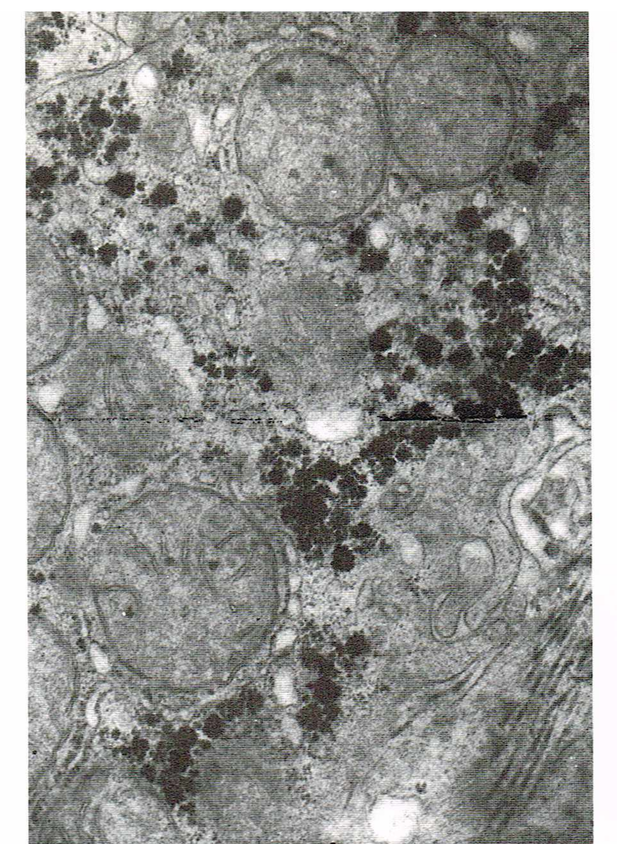
On peut effectuer des digestions *in vitro :* pour ce faire, on utilise l'*amylase* salivaire, qui fragmente la molécule en gros tronçons, les *dextrines,* qui se colorent en rouge avec l'iode quand la fragmentation enzymatique n'est pas trop poussée; ensuite, les petits fragments ne se colorent plus. Dans l'organisme, le processus aboutit au maltose, lequel est ensuite hydrolysé par une autre enzyme spécifique. Des diastases existent en abondance dans les plantes en germination, lors de l'utilisation des réserves pour la croissance de la plantule.

Le **glycogène** est, comme l'amidon, un polyoside de réserve. Bien qu'on l'appelle amidon animal, il existe chez certains Champignons, dont les Levures. On le trouve dans une très grande variété de cellules animales, en particulier musculaires et hépatiques.

Le glycogène est une macromolécule formée par plus de 15 000 « résidus » de maltose, donc par plus de 30 000 molécules de D glucopyranose en liaison 1—4. Cela



Richard Colin



B. Graaf



J. Bouchard

▲ ***Le glycogène** est un polyoside de réserve abondant dans les cellules musculaires et hépatiques.*
A gauche,
structure schématique du glycogène : 1, chaîne non ramifiée ; 2, ramification ; 3, le premier sucre réducteur porte en C_1 une fonction aldéhyde.
Au milieu,
rosettes de glycogène dans le hyaloplasme d'une cellule de foie d'embryon d'oie.
A droite,
coupe d'épiderme d'embryon de souris ; les cellules contiennent du glycogène coloré en rouge par la méthode P.A.S.

donne des *chaînes très ramifiées,* encore mal connues jusqu'à ces dernières années. Les ramifications se font périodiquement sur la chaîne : une branche pour environ 5 résidus maltose (10 glucoses). Là encore, il s'agit d'une ramification par liaison 1—6, mais l'ensemble est beaucoup plus buissonnant que pour l'amylopectine, cela est confirmé par l'abondance du diméthylglucose obtenu après méthylation et hydrolyse. Ces macromolécules forment des solutions colloïdales ; une coloration spécifique permet de mettre le glycogène en évidence dans la cellule.

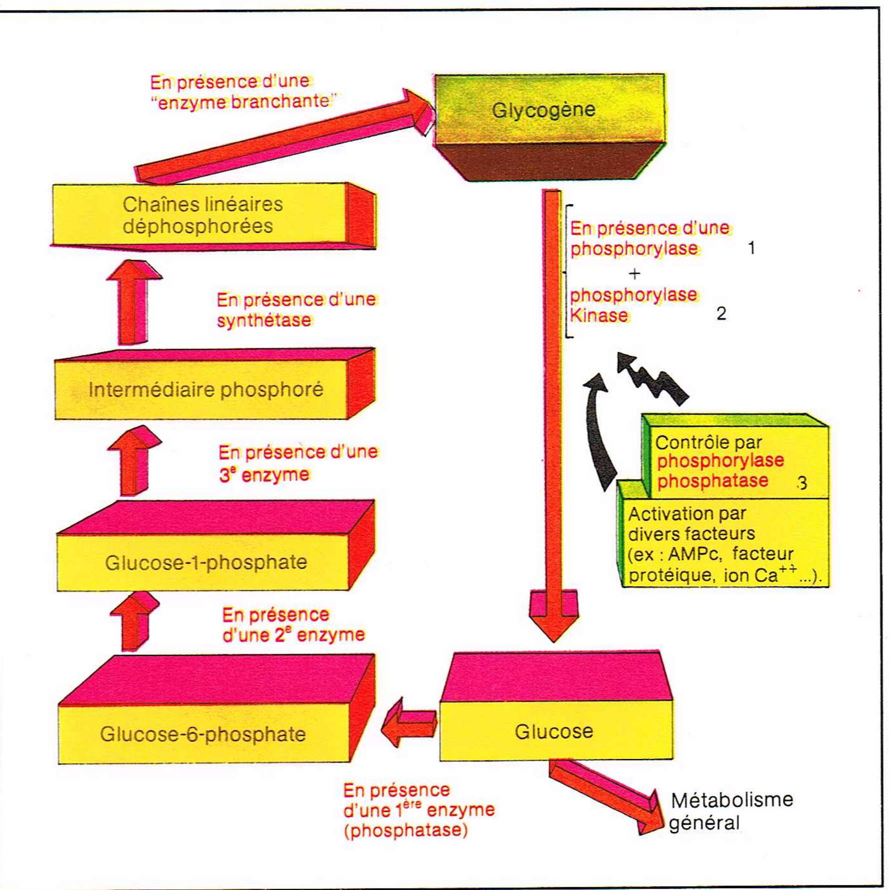
Notons ici, comme l'a souligné Durand, que les différences stéréochimiques entre les polyholosides qui ont été décrits jusqu'à présent sont très minimes : la *cellulose* est faite de β glucose ; c'est une molécule plane, non ramifiée ; l'*amidon* est fait d'α et de β glucose ; c'est une molécule spiralée, linéaire ou ramifiée ; le *glycogène* est fait d'α et de β glucose, mais la macromolécule spiralée est fortement ramifiée. Si les différences stéréochimiques sont légères, les propriétés biologiques sont bien différentes ; de telles constatations pourraient d'ailleurs être faites pour bon nombre de substances chimiques, biologiquement actives sous une forme et parfaitement inactives lorsqu'il s'agit d'un isomère.

Pour être utilisé par les cellules, le glycogène doit être dégradé. Il s'agit d'une *phosphorolyse :* l'acide phosphorique coupe les chaînes et se lie à une molécule de glucose, donc en position 1. Ensuite, le glucose est métabolisé : il sert pour la respiration et la synthèse d'une foule de molécules diverses. La phosphorolyse n'est possible qu'en présence d'une enzyme, la *phosphorylase ;* celle-ci, pour être active, nécessite le concours d'une autre enzyme, la *phosphorylase kinase.* Cependant, au cas où, dans une cellule, il y aurait trop de phosphorylase kinase, donc une trop forte activation de la phosphorylase et une dégradation trop rapide du glycogène, il existe une autre enzyme qui contrebalance le phénomène : la *phosphorylase phosphatase.* Il y a mieux encore : la phosphorylase kinase peut être activée par deux moyens connus qui impliquent l'existence d'AMP (adénosine monophosphate : 3',5',AMP cyclique) ou d'un facteur protéique allié aux ions Ca^{++}. On a, dans le cas de cette phosphorolyse, une exemple particulièrement net qui montre la complexité des phénomènes de régulation biochimique essentielle. La glycogénolyse est un phénomène encore mal connu ; on sait beaucoup de choses sur le muscle et le foie des Mammifères, mais on connaît mal les autres organes, y compris le foie et le muscle, des autres animaux.

Le phénomène inverse, c'est-à-dire la *formation des réserves glycogéniques,* peut se faire de diverses façons qui dépendent du matériel chimique disponible.

A partir du glucose se forment successivement deux dérivés phosphorylés, ce qui nécessite l'aide de deux

▼ *Schéma de la synthèse (à gauche) et de la dégradation (à droite) du glycogène ; la glycogénonéogenèse n'est pas représentée ici.*



Richard Colin



Archives P2

▲ *Les gommes qui s'écoulent le long des arbres fruitiers blessés ou vieillissant sont constituées par des* arabanes, *polysaccharides spécifiquement végétaux.*

▼ *Les* pectines *forment un ciment qui unit les membranes cellulosiques des cellules végétales. Abondantes dans les fruits, ce sont les pectines qui permettent la gélification des confitures; ici une coupe de cerise (partie charnue).*



Nuridsany - Reichert

enzymes; puis, la polymérisation se produit en présence d'une enzyme spécifique, la *glycogène synthétase*. En fait, la succession des étapes est un peu plus complexe; par exemple, la synthétase ne permet que les liaisons 1—4; pour que se forment les ramifications, il faut une *enzyme branchante* permettant des liaisons 1—6. Cela constitue la *glycogénogenèse*.

A partir d'autres précurseurs, tels que des acides pyruvique et lactique, des acides du cycle respiratoire (cycle de Krebs) ou des acides aminés, la cellule fabrique aussi du glycogène. On parle de *glycogénonéogenèse;* elle implique des séries d'enzymes.

Il existe un équilibre entre la synthèse du glycogène et sa phosphorolyse. Selon Florkin et Schoffeniels, « c'est le rapport des concentrations de phosphate inorganique et de glucose-1-phosphate qui commande le sens de la réaction ». La synthèse du glycogène se ferait à partir du moment où il y a plus d'une molécule de glucose-1-phosphate pour trois molécules de phosphate minéral.

Il faut préciser que la formation (anabolisme) et la dégradation (catabolisme) du glycogène sont sous la dépendance de mécanismes hormonaux complexes.

Autres polysaccharides spécifiquement végétaux

Les **mannanes** sont des polyholosides (200 mannoses) non ramifiés qui constituent l'essentiel de la membrane squelettique de certaines graines de palmiers (comme le *Phytelephas,* qui donne le corozo de caripe, ou ivoire végétal). On les trouve aussi dans le bois des Conifères.

Un dérivé du mannose, le mannitol, qui est un hexalcool, se trouve dans les mannes, c'est-à-dire dans les exsudations sucrées qui apparaissent sur les feuilles du tilleul ou du frêne. Faut-il voir là un rapport avec la manne dont parle l'Ancien Testament? Dans ce cas, ce polyoside aurait du moins une importance historique.

Les **galactanes** existent dans le bois et les graines. Ils sont faits de 120 molécules de galactose.

Dans les tubercules de certaines Composées, comme le *Dahlia,* on trouve un **fructosane** d'environ 35 D glucoses: c'est l'*inuline*. Il y a des fructosanes dans beaucoup de groupes, en particulier chez les Bactéries.

Les **xylanes,** très communs, constituent l'essentiel des membranes lignifiées, éléments essentiels du bois. Leurs macromolécules sont ramifiées, formées de *D xylose* et, parfois, d'arabinose, qui sont deux sucres en C_5.

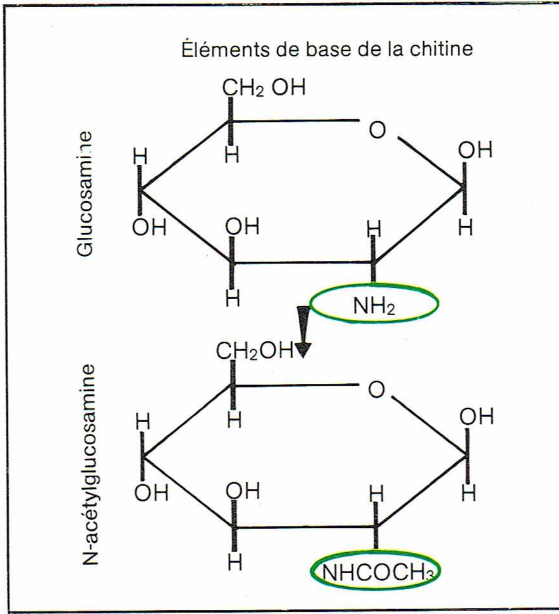
Les **arabanes** forment les gommes, telles que celles qui s'écoulent le long des arbres fruitiers lorsqu'ils vieillissent ou lorsqu'ils ont été blessés. La gomme arabique était considérée jusqu'en 1960 comme un polymère de l'arabinose; il est facile de provoquer l'hydrolyse acide de la gomme et de caractériser ces pentoses libérés à l'aide d'une réaction colorée en présence d'orcine. Mais on sait maintenant, grâce à l'utilisation de techniques nouvelles, qu'il s'agit de *sels de polyuronides* (acides dérivés des oses) et que les mucilages de diverses plantes, dont la graine de lin, sont des molécules très ramifiées et formées de *divers sucres*.

Nous venons de signaler l'existence de polymères où une partie des chaînes est, en fait, constituée non d'oses, mais d'acides uroniques, dérivés d'oxydation de ces oses. Il existe des polyuronides chez la plupart des végétaux. Les polyuronides les plus courants sont les **pectines.** Certains sont des constituants importants des parois cellulaires végétales; on sait depuis longtemps qu'il existe, entre les loges du squelette cellulosique, une substance qui cimente celles-ci et qui se colore électivement par le rouge de ruthénium. Cette partie du squelette, ou squelette pectique, est assez résistante et peut être observée facilement sur des coupes d'organes végétaux débarrassés de toute trace de protoplasme par un traitement vigoureux à l'hypochlorite de sodium (eau de Javel). D'autre part, certains de ces composés sont solubles dans l'eau : on les trouve dans les liquides cellulaires, par exemple dans les cellules de la pomme et surtout de la poire et de la tomate; ce sont eux qui permettent la gélification des confitures; lorsque la chair de la poire et de la tomate devient presque liquide, les pectines se solubilisent et les cellules deviennent libres à la maturité. L'acide pectique est une chaîne droite d'acides D galacturoniques en liaison 1—4.

Polysaccharides aminés plus spécifiquement animaux : les polyglucosamines

L'exemple de la **chitine** est important puisque c'est un des constituants essentiels du tégument des Arthropodes. De plus, il en existe chez les Champignons. Il s'agit de chaînes formées de molécules de N acétylglucosamine.

Le dimère que l'on obtient par hydrolyse correspond au *chitobiose,* qui peut être rapproché du cellobiose.



Richard Colin

Les hétérosides

On trouve des hétérosides, de types différents, dans de nombreuses familles de végétaux. Par hydrolyse de la molécule, on libère une ou plusieurs molécules d'oses, mais aussi des substances non glucidiques.

L'**amygdaloside,** substance contenue dans les amandes amères et dégageant une odeur caractéristique, est formé de deux molécules de glucose, d'une molécule d'acide cyanhydrique HCN et d'une molécule d'aldéhyde benzoïque

$$\underset{\text{amygdaloside}}{C_{20}H_{27}NO_{11}} + 2H_2O \rightarrow \underset{\text{glucose}}{2\,C_6H_{12}O_6} + HCN + \underset{\text{ald. benzoïque}}{C_6H_5CHO}$$

Notons que HCN est une substance extrêmement toxique pour la cellule vivante, dont il bloque la respiration ; il ne peut exister une telle molécule qu'à l'état de complexe dans un organisme vivant.

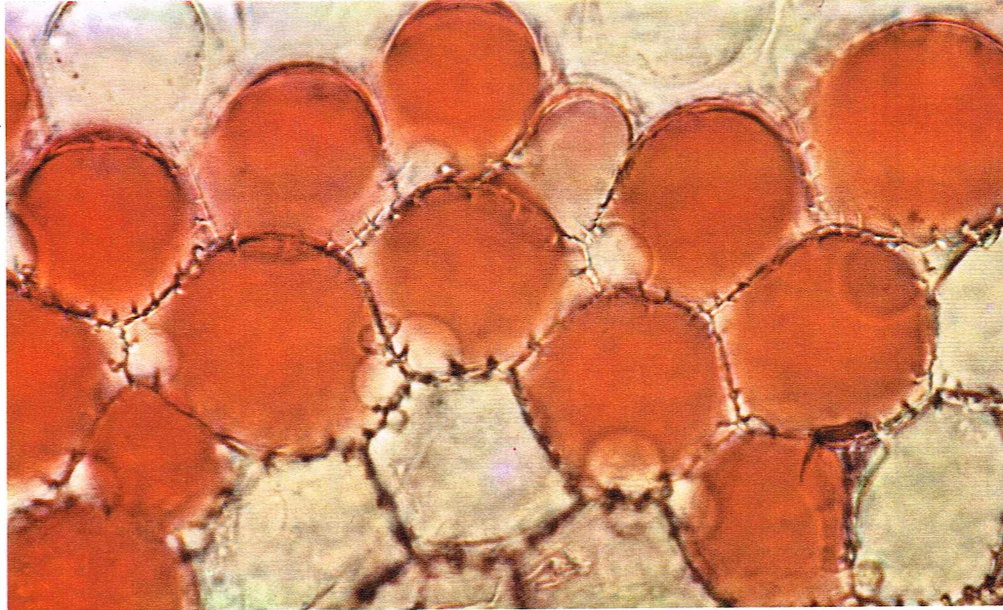
Les **anthocyanes** sont des substances solubles dans les vacuoles, qu'elles colorent en rouge, en mauve ou en bleu. Les anthocyanes sont composés d'un *ose,* le plus souvent du *glucose* ou du *galactose,* et d'*anthocyanide.* L'anthocyanide est un noyau hétérocycle (un noyau pyran entouré de deux noyaux benzéniques) ; c'est un noyau flavone. Une solution d'anthocyane traversée par la lumière absorbe l'UV et le vert-jaune ; elle laisse donc passer les autres longueurs d'onde et apparaît rouge, mauve, etc. Le pH peut modifier la couleur des anthocyanes : un pH acide donne une teinte virant au rouge, un pH basique une teinte virant au bleu. Heller précise que des ions métalliques, par exemple l'aluminium, peuvent être chélatés ; le chélat obtenu est bleu : ainsi, les *Hortensia,* naturellement roses, deviennent bleus lorsqu'ils sont arrosés d'une solution contenant des sels d'aluminium.

Les **composés flavoniques,** voisins des anthocyanes, sont dissous dans les vacuoles ; ils sont responsables de la couleur jaune des pièces florales, de certains bois et de certaines écorces. Beaucoup de composés flavoniques sont incolores pour l'homme mais peuvent paraître « colorés » aux abeilles, dont l'œil est sensible aux ultraviolets.

Les **tanins** sont des composés phénoliques dissous ou précipités dans les cellules des parenchymes corticaux de certains arbres, du chêne par exemple. On en trouve en quantité dans les galles provoquées par les piqûres d'Insectes ou par leurs larves (galles du chêne et de l'églantier). Les tanins empêchent la putréfaction des peaux d'animaux naturalisés ou préparés pour leur fourrure ; le bois de chêne ou de châtaignier, dont on fait des tonneaux, est également protégé par les tanins contre la putréfaction.

Enfin, les tanins jouent un rôle important dans la conservation et la maturation des vins (ils précipitent les protéines du jus de raisin).

▼ *A gauche, formule de la N-acétylglucosamine, élément de base de la* **chitine.** *A droite, cellules papilleuses de l'épiderme de la face supérieure d'un pétale de* **Pelargonium ;** *ces cellules montrent une grande vacuole remplie d'***anthocyane** *qui donne sa couleur au pétale.*

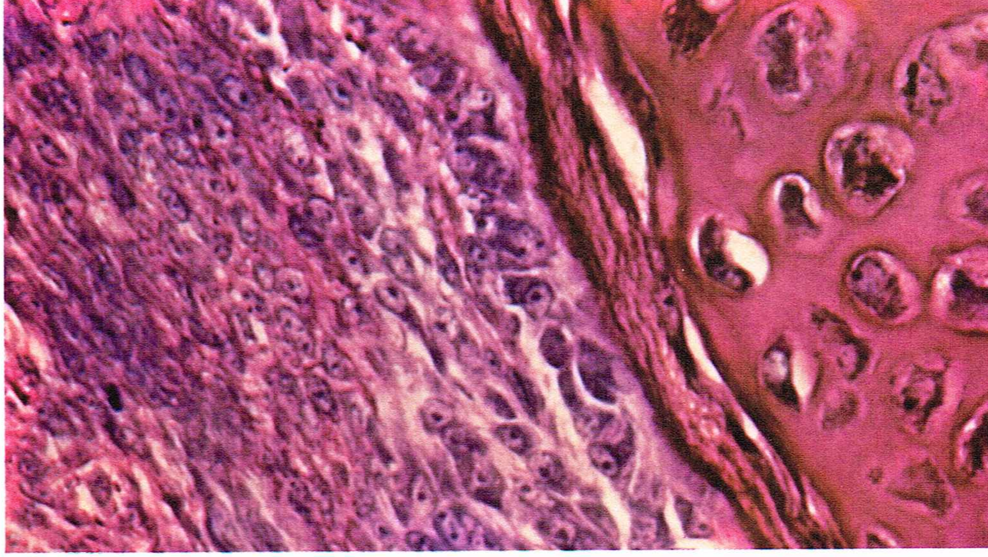

S. Blaise

Les mucopolysaccharides

Les mucopolysaccharides sont assez difficiles à classer ; en effet, s'ils sont communs dans les cellules ou dans le milieu interstitiel, ils s'y trouvent combinés à des protéines, l'ensemble formant des *mucoprotéines,* ou protéines polysaccharides, ou *P. P.* (Schubert, 1964).

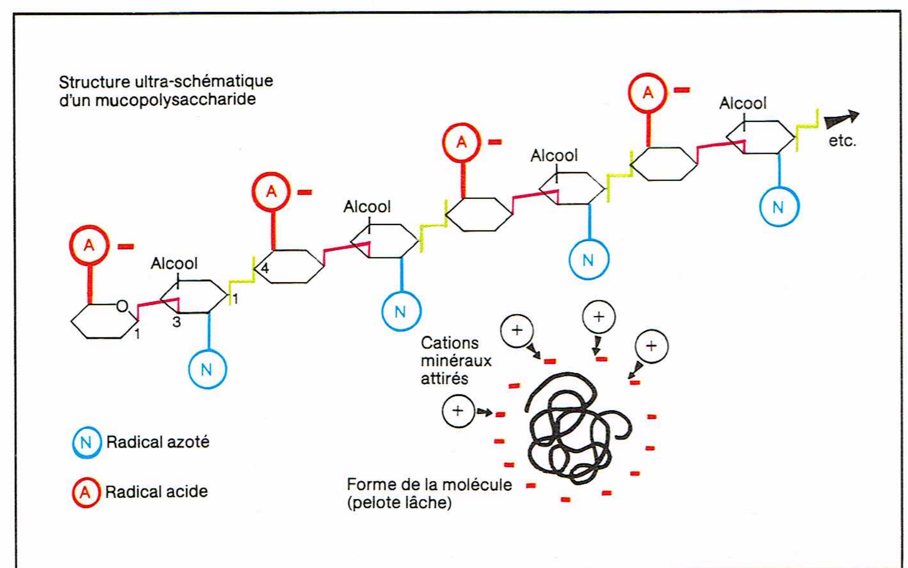
Le poids moléculaire et la structure sont variables suivant les types de mucopolysaccharides. Ainsi, pour l'**acide hyaluronique,** substance constituant l'essentiel du ciment intercellulaire, le poids moléculaire varie de 1 à 5 × 10^6, suivant le mode d'extraction ; la molécule est pelotonnée, ce qui explique la remarquable viscosité des solutions, même diluées. Les chiffres sont encore plus imprécis pour l'**acide chondroïtine sulfurique,** substance très condensée qui forme l'abondant ciment du cartilage.

▼ *Le tissu cartilagineux contient beaucoup de* **mucopolysaccharides ;** *sur cette coupe colorée par le bleu de toluidine,* **l'acide chondroïtine sulfurique** *apparaît en rouge (métachromasie ; embryon d'Oiseau).*


J. Bouchard

▼ *Structure d'un mucopolysaccharide : le radical acide qui est ionisé donne un caractère anionique à la macromolécule ; certains mucopolysaccharides peuvent être encore plus acides ; les alcools restants sont remplacés par un acide soufré.*

Les molécules sont construites de manière homogène, c'est-à-dire que les motifs moléculaires obtenus par hydrolyse sont semblables pour un mucopolysaccharide donné ; selon Durand, cette caractéristique exclut la possibilité d'une architecture complexe du polymère. Chaque dimère des chaînes est constitué par deux molécules dérivées des oses et liées en 1—3. Par contre, les dimères sont soudés en 1—4. Les dérivés des sucres sont de types divers : acides uroniques, sucres aminés, esters-sels sulfuriques.

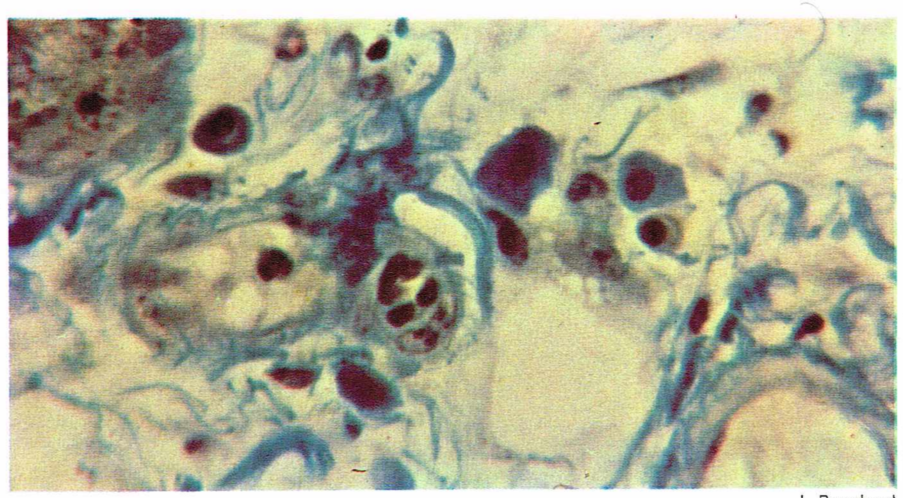


Richard Colin

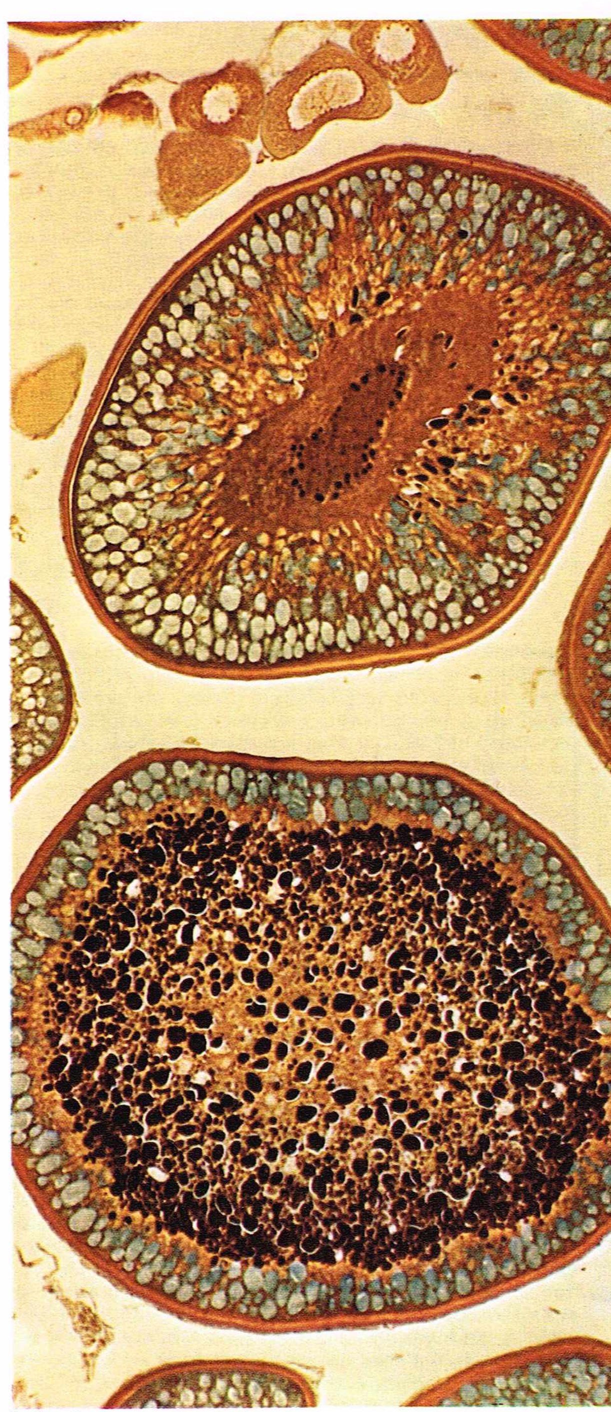
▶ *Mise en évidence des lipides dans les cellules sexuelles de l'ovaire de carpe ; une coloration particulière les fait apparaître sous forme de grains noirs ; ils sont absents dans les cellules sexuelles jeunes, qui sont de petite taille.*

Bien qu'ils soient extracellulaires et qu'ils participent de loin au métabolisme, les mucopolysaccharides, qui sont d'ailleurs assez mal connus car très complexes et très variés, sont loin de jouer un rôle secondaire. De leur abondance dépend la structure physique de la substance fondamentale du tissu conjonctif ; certaines affections, en modifiant leur synthèse, entraînent des anomalies organiques, en particulier la viscosité de ces glucides est réduite dans le cas de proliférations de type tumoral. L'**héparine** empêche la coagulation du sang et intervient dans l'élimination du caillot hémorragique, lors des étapes finales de la cicatrisation d'une plaie par exemple. D'autres polysaccharides proches de l'héparine seraient impliqués dans les processus de tumorisation expérimentale chez les Rongeurs (Mizuno et Fujii, 1969). Par ailleurs, certains mucopolysaccharides, en formant un revêtement de nature spécifique à la surface des hématies, déterminent chacun des groupes sanguins ; plus généralement, ce sont des facteurs essentiels des *mécanismes de reconnaissance* des cellules ; on a montré que des mucopolysaccharides sont responsables de *propriétés antigéniques* liées à la coque de micro-organismes, donc du comportement et de la pathogénie de diverses Bactéries.

▼ *Ces cellules, observées dans un ganglion lymphatique, contiennent de l'***héparine***, un mucopolysaccharide empêchant la coagulation sanguine.*



J. Bouchard



R. Bauchot

LES LIPIDES

Les lipides se présentent sous des formes variées : huiles, graisses, cires, lécithine du jaune d'œuf par exemple. Leur composition chimique est plus ou moins complexe : ils peuvent être constitués des mêmes éléments que les glucides, mais certains d'entre eux comportent des éléments nouveaux ; c'est le cas, par exemple, pour les phospholipides du cerveau.

Les lipides sont en fait une famille assez hétérogène. Ils ont cependant une propriété commune, fondamentale pour la vie : ils sont solubles dans les solvants organiques mais très insolubles dans l'eau. Ils comportent des *radicaux hydrophobes,* dont les fonctions sont dominantes. Cependant, il existe dans toutes les molécules de lipides un *pôle hydrophile ionisable ;* on a, par exemple, une longue chaîne hydrophobe de groupes CH_2 et, à l'extrémité, on trouve un groupe COOH hydrophile et ionisable ; on parle de grands ions organiques (Langmuir et Harkins). De telles substances sont dites *amphipolaires.*

Huiles, graisses et cires, les lipides ternaires (C, H, O)

La molécule des lipides ternaires, formée seulement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, rappelle celles des hydrocarbures paraffiniques. En général, ces lipides sont saturés. Ce sont des *esters* (ou *esters-sels*) résultant de la réaction entre des acides gras et des alcools.

Les *acides gras*, lorsqu'ils sont saturés, ont pour formule générale $CH_3(CH_2)_nCO_2H$, *n* pouvant être un nombre élevé, notamment dans le cas des cires.

L'*alcool* le plus fréquemment utilisé pour l'estérification au sein de la cellule est le *glycérol*, $CH_2OH—CHOH—CH_2OH$, trialcool bien connu sous le nom de glycérine.

Les acides gras

On constate que les acides gras eux-mêmes sont amphipolaires, à groupement hydrophile acide organique C = O.
\OH

Voici trois exemples :
Acide palmitique : $CH_3—(CH_2)_{14}—CO_2H$
Acide stéarique : $CH_3—(CH_2)_{16}—CO_2H$
Acide oléique (non saturé) :
$CH_3—(CH_2)_7—CH=CH—(CH_2)_7—CO_2H$

Des acides aliphatiques (linéaires) de ce type, mais moins riches en carbone, ne sont pas des acides gras ; ils sont en effet solubles dans l'eau :

Les acides gras possèdent une propriété d'une importance telle qu'il est nécessaire de la décrire précisément : versés à la surface d'une solution aqueuse, ils se disposent en un *film monomoléculaire ;* on estime que, dans certains cas, de tels films peuvent avoir une structure qui s'apparente à celle des membranes cellulaires. La formation d'un film s'obtient aussi bien avec les acides gras que les esters de ces acides (Raleigh). Il suffit d'une très petite quantité de substance pour obtenir un film de grande surface. On obtient, sans précautions particulières, une couche de molécules qui restent dispersées à l'interface eau-air ; le pôle hydrophile est en bas, au contact de l'eau, alors que la chaîne aliphatique est plus ou moins dressée hors de l'eau. Si l'on augmente la quantité d'acide gras ou d'ester, les molécules se rapprochent et l'on obtient un film continu. Langmuir a fait l'expérience suivante : si l'on verse avec précaution l'acide gras, on constate que ses molécules ont, en s'étalant, assez de force pour repousser deux fines plaques de verre posées à la surface de l'eau ; cette force augmente si l'on comprime le film entre les plaques. Tout se passe comme si le film était un gaz bidimensionnel (Kruyt et Van Overbeek).

L'appareillage décrit sous le nom de « balance de Langmuir » permet de déterminer les forces et d'établir plusieurs conclusions : l'une des plaques maintenues en surface n'est pas mobile et supporte une balance de torsion qui permet de mesurer la pression transmise, quand on les comprime, par les molécules d'acides gras. La compression se fait en déplaçant la seconde plaque. La force qui s'oppose à la compression a une double origine : l'agitation moléculaire (thermique) et la répulsion électrostatique des molécules.

On peut établir, pour chaque acide gras, une courbe représentant la pression observée, en fonction de l'aire disponible pour une molécule. La pression augmente très rapidement lorsque l'aire disponible diminue, puis elle atteint un maximum avant de redescendre brusquement. Que s'est-il passé en surface ? Quand on déplace la plaque mobile, les molécules dispersées sont amenées à former un film continu ; la pression s'accroît fortement ; ensuite, au niveau du maximum, il se produit un plissement du film, dont les molécules manquent d' « espace vital », et le pli se brise ; d'où une baisse immédiate de la pression latérale de la part du film.

Langmuir ne connaissait pas la structure amphipolaire des molécules qu'il étudiait ; il la découvrit par le calcul et constata que leur longueur est beaucoup plus importante que leur diamètre ; en effet, au moment de la rupture du film, chaque molécule occupe l'aire minimale ; on peut donc connaître son diamètre si l'on connaît le nombre total de molécules, et on trouvera sa longueur puisque l'on connaît le volume total de l'acide gras utilisé. Des recherches plus récentes ont montré que le film est d'autant plus résistant que les molécules sont plus longues.

Une conséquence de ces expériences, et non des moindres, est qu'il est possible d'étudier ces films en utilisant le microscope électronique ; les résultats sont extrêmement spectaculaires. En combinant divers lipides pour qu'ils constituent ces membranes artificielles, on peut obtenir des figures qui rappellent plus ou moins ce que l'on observe au sein des membranes cellulaires. Des coupes faites perpendiculairement à la surface montrent l'arrangement des longues molécules, une telle manipulation peut permettre de constituer des *modèles* qui autorisent des raisonnements comparatifs.

▲ ***En haut, disposition des molécules d'un film de lipides à la surface de l'eau : 1, longue chaîne hydrophobe ; 2, pôle hydrophile ionisable.***
***Au milieu, principe de la* balance de Langmuir.**
En bas, rupture du film de molécules lipidiques lors d'une compression latérale.

Nature, origines et rôles des lipides ternaires

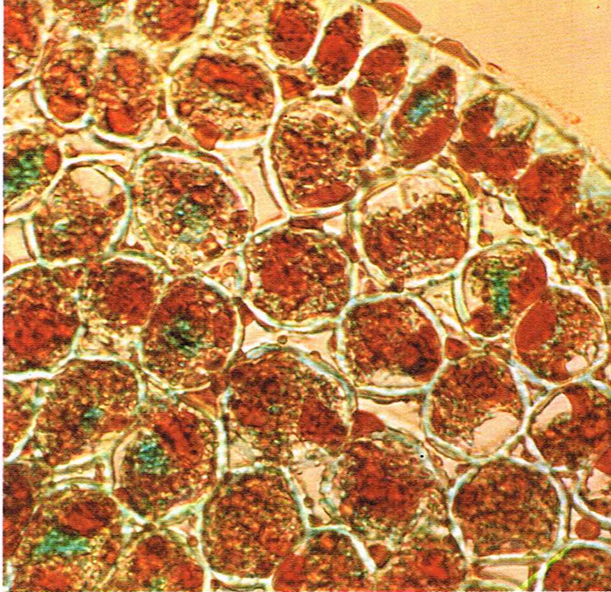
Les acides gras sont, en général, combinés à divers types d'alcools : le *glycérol* (à deux fonctions alcool

▶ *Coupe d'embryon d'arachide* (Arachis hypogea) *colorée au soudan III; les lipides apparaissent en orange.*

primaire et une secondaire), les *alcools* de poids moléculaire élevé, les *stérols* à molécules polyaromatiques. Chez les animaux, il est peu fréquent que les acides soient à l'état libre; ainsi, l'acide linolénique (la « vitamine » F selon Kayser) régulariserait la perméabilité cellulaire.

Les glycérides

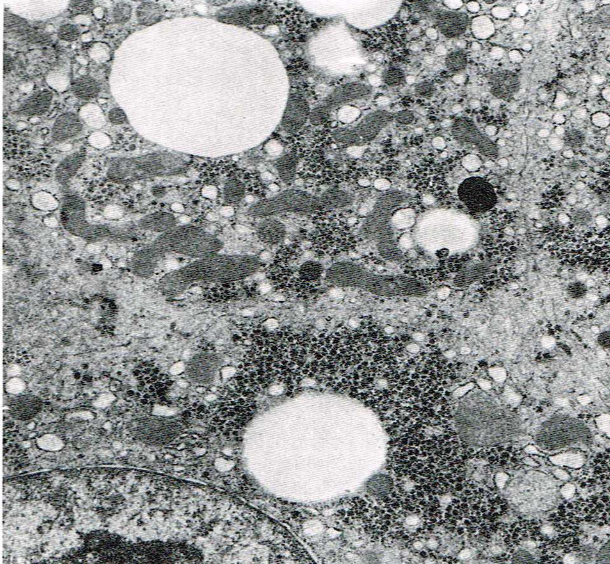
Nature des glycérides. Les *acides gras végétaux* les plus répandus sous forme de glycérides sont : l'*acide oléique* commun et abondant dans la plupart des graines végétales; l'*acide linoléique,* lui aussi fréquent; l'*acide palmitique,* un des constituants de l'huile de palme; l'*acide linolénique* de l'huile de lin, utilisé dans la fabrication des peintures à l'huile et qui joue un rôle important comme siccatif de par sa rapidité à durcir par oxydation des chaînes carbonées; l'*acide arachidique* de l'huile d'arachide, ou huile de cacahuète; l'*acide ricinoléique* de l'huile de ricin.



P. Castano

Tableau de la teneur en acides gras de quelques huiles (en % du total d'acides gras).

Huile	Origine	Palmitique	Oléïque	Linoléïque	Linolénique
Olive	Péricarpe d'*Olea europaea* Olivier	10	70-80	7-10	—
Palme	Péricarpe d'*Elaeis guineensis* Palmier à huile	35-43	40-50	7-10	—
Lin	Graines de *Linum usitatissimum* Lin cultivé	6-16	13-36	10-25	30-60
Noix	Graines de *Juglans regia* Noyer	7	16	72	4



B. Graaf

▲▶ *Coupe de tissu hépatique d'une oie soumise à une alimentation hautement énergétique; ce « foie gras » montre une étroite association entre les lipides (gouttelettes « blanches ») et les glucides (glycogène sous forme de petites rosettes noires).*

Parmi les glycérides végétaux, on trouve des *beurres,* comme le beurre de cacao (utilisé, entre autres, pour la fabrication des suppositoires), des *graisses,* mais plus souvent des *huiles* plus ou moins visqueuses; ces dernières se trouvent sous forme de fines gouttelettes dans le cytoplasme, un peu à la manière de l'huile dans une vinaigrette fortement agitée. Il s'agit de substances de réserve abondantes dans les graines dites oléagineuses : soja, tournesol, chanvre, lin, colza, arachide, noix, ricin, olive, noix de coco (qui donne l'huile de coprah, utilisée dans la fabrication des savons et des bougies).

Les glycérides animaux peuvent exister sous forme d'*huiles* (huile de foie de morue, par exemple) ou de *graisses* (graisse de porc, graisse humaine, etc.).

Ces corps gras naturels sont des triglycérides qui servent de réserves énergétiques. Ils résultent de l'estérification du *glycérol* par trois acides gras qui ne sont pas toujours de même nature.

La formule générale est la suivante :

$$\begin{array}{r}CH_2 - O - CO - R_1\\ |\quad\quad\quad\quad\quad\\ R_2 - CO - O - CH\quad\quad\quad\quad\quad\\ |\quad\quad\quad\quad\quad\\ CH_2 - O - CO - R_3\end{array}$$

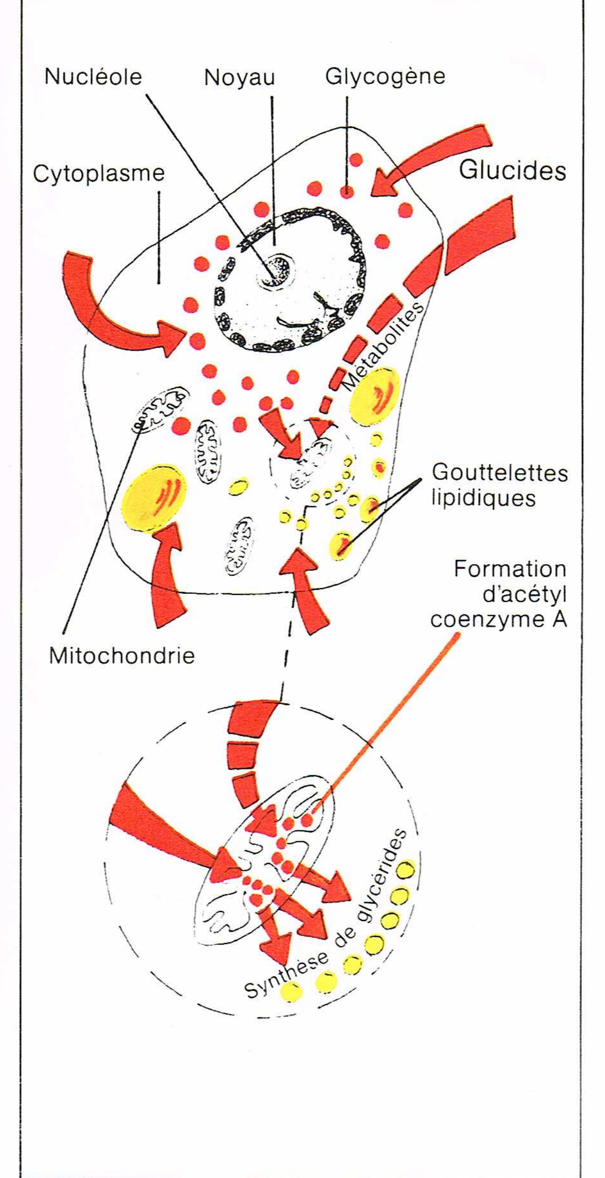
Les radicaux R correspondent aux chaînes d'acides gras.

Le glycérol des cellules vivantes est sous forme L, ce qui confirme que la vie sélectionne d'emblée, pour tous les êtres, certains types de molécules dont la stéréochimie est essentielle. Une telle sélection reste bien mystérieuse.

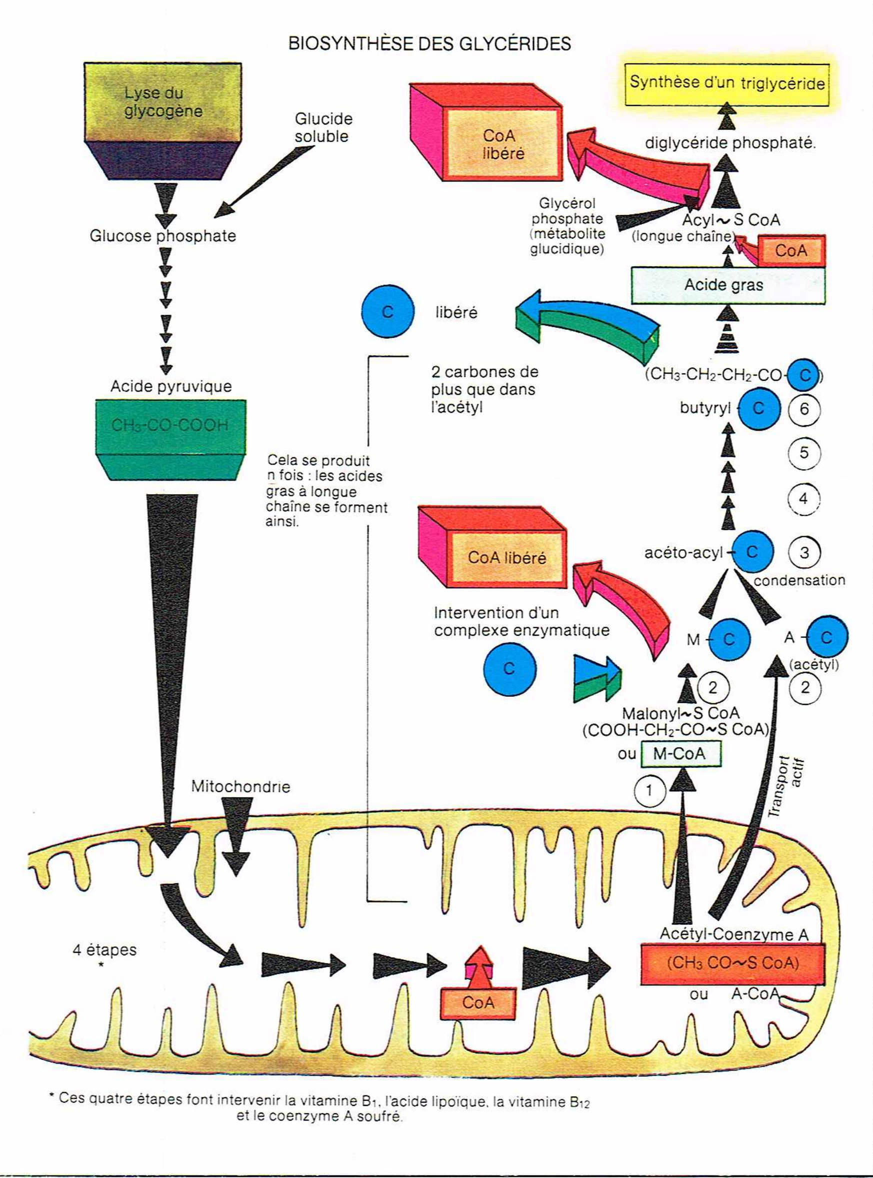
Origine des glycérides. Dans l'organisme d'un Vertébré, les triglycérides qui sont absorbés avec la nourriture sont attaqués par une diastase : la *lipase digestive* du pancréas et de l'intestin; cette enzyme provoque une hydrolyse. Or, les enzymes lipolytiques sont hydrosolubles, alors que les lipides sont hautement hydrophobes; comment la réaction peut-elle donc s'effectuer? Il y a d'abord émulsion des glycérides : les molécules lipidiques se groupent en agrégats, ou *micelles,* sous l'action de la *sécrétion biliaire.* Dans une micelle, toutes les chaînes aliphatiques sont tournées vers le centre, alors que les pôles hydrophiles ionisés forment une couche externe continue. L'émulsion est produite par les *acides choliques* (C_{24}) de la bile et par leurs *sels* qui constituent eux-mêmes des micelles analogues à celles des savons; ces micelles s'adsorbent aux graisses, et les chargent électriquement tout en les stabilisant en milieu aqueux. C'est alors seulement que peuvent agir les lipases. Après l'absorption intestinale, les glycérides hydrolysés sont recombinés, en fonction de divers facteurs.

Chez les Vertébrés, la composition des graisses varie suivant l'âge de l'individu, la nature de l'organe et même en fonction des conditions climatiques; on sait, par exemple, que les corps gras à point de fusion bas sont abondants chez les hommes constitutionnellement adaptés au froid, comme les Esquimaux; la trioléine domine chez eux, en particulier, sous la peau des mains et du visage, exposés au froid.

Mais tous les corps gras du type des glycérides ne sont pas d'origine aussi directement alimentaire. C'est évidemment le cas des végétaux qui les synthétisent *de novo,* mais c'est aussi celui de tous les animaux. Chez ces derniers, une partie des lipides vient du métabolisme général. La synthèse est une nécessité physiologique; des lipides de structure sont indispensables, et il y a toujours une synthèse minimale d'acide gras même chez les maigres; toutefois, dans les cas de surnutrition, le métabolisme entraîne la mise en réserve de graisse. L'excès de glucides favorise particulièrement l'accumulation de graisse : outre les observations chimiques, les expériences chez l'animal sont très probantes; ainsi, le marquage par des isotopes radioactifs des glucides ingérés entraîne rapidement une accumulation de la radioactivité dans le tissu adipeux. Des acides gras sont néo-formés en abondance lorsque la nourriture est plus riche que l'optimum nécessaire pour les fonctions essentielles.

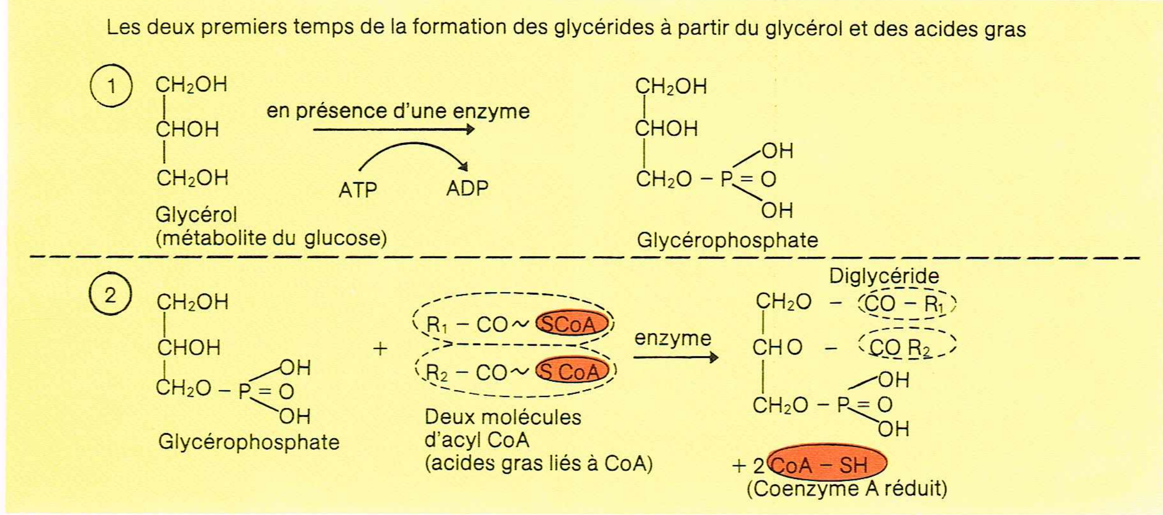


Richard Colin



Richard Colin

◄▲ *A gauche, schéma de la localisation de la synthèse des lipides dans une cellule. A droite, les grandes étapes de la biosynthèse des glycérides à partir des glucides.*



Richard Colin

◄ *Détail de la synthèse des glycérides; deux étapes de la formation d'un diglycéride à partir du glycérol et de deux acides gras liés au coenzyme A.*

Ces synthèses sont extrêmement complexes. Les premières étapes se déroulent dans les *mitochondries,* organites cytoplasmiques fonctionnant comme des unités de production. Les mitochondries élaborent, surtout à partir des glucides, un substrat complexe : l'*acétyl-coenzyme A* (ou acétyl CoA, ou encore acétyl SCoA) ; la source d'énergie est l'ATP. Le reste de la synthèse se fait dans le hyaloplasme, après transport actif du substrat à travers la membrane de la mitochondrie. Cela implique un nombre d'étapes élevé, donc la participation de nombreuses enzymes spécifiques de chaque réaction : il y a, en effet, six étapes avant l'adjonction de deux carbones à l'acétyl CoA; l'adjonction de 2 autres carbones à l'acide déjà formé nécessite six nouvelles étapes, identiques aux précédentes. On conçoit aisément que la synthèse d'un acide en C_{18} n'est pas un phénomène simple... Mais les choses ne s'arrêtent pas là ! Il faut ensuite que se fasse la synthèse des triglycérides, celle-ci nécessite une phosphorylation du glycérol en présence d'ATP, puis condensation du glycérol phosphate avec un, puis deux acides gras néo-formés.

Après enlèvement de PO_3H_2 en présence d'une enzyme phosphatasique, le diglycéride se combine avec R_3 CO ~ SCoA et donne le triglycéride et du coenzyme A—SH ou coenzyme inactivé sur le plan thermodynamique.

La nécessité d'un tel travail devrait logiquement freiner la gourmandise de bien des personnes gagnées par l'embonpoint ! Hélas, ce dernier n'a pas toujours des

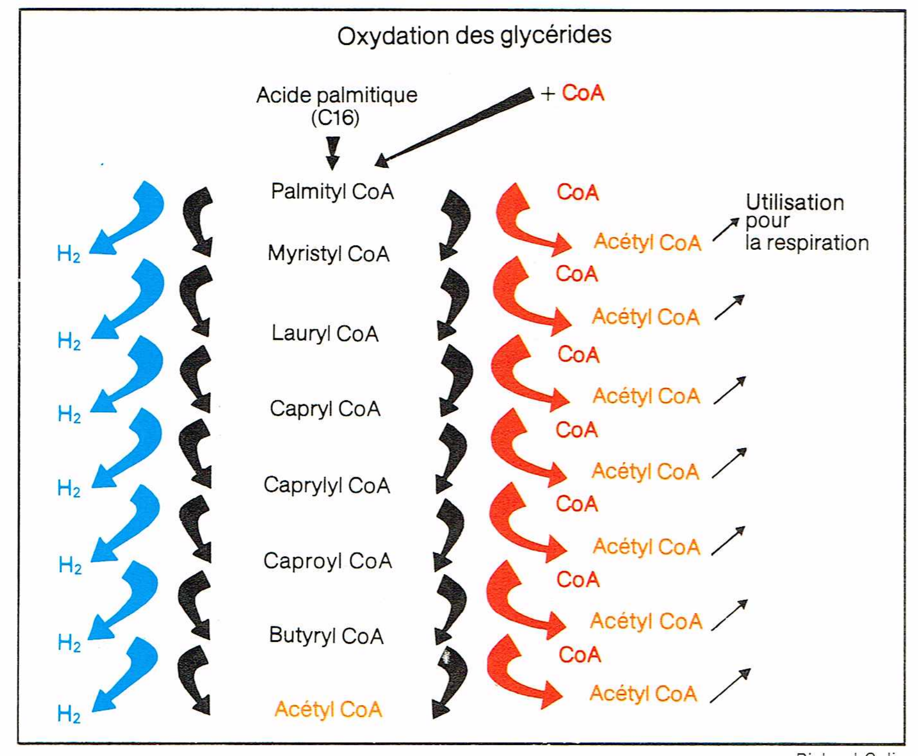

Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

▶ *Les rayons dans lesquels se développent les larves d'abeille (ici* **Apis mellifica)** *sont constitués de cire, céride sécrété par les glandes spéciales des ouvrières.*

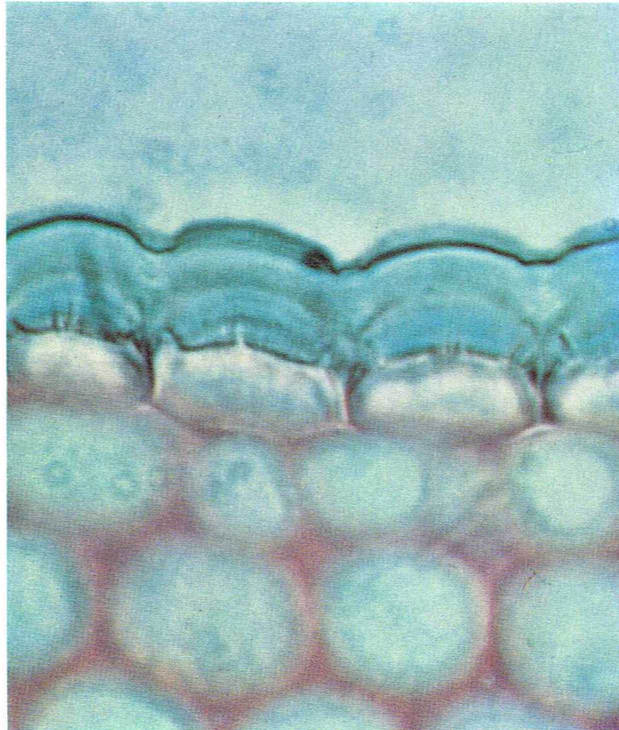
causes simples ; il dépend souvent de facteurs nerveux et hormonaux ainsi que de relations entre le métabolisme des graisses et celui du glycogène.

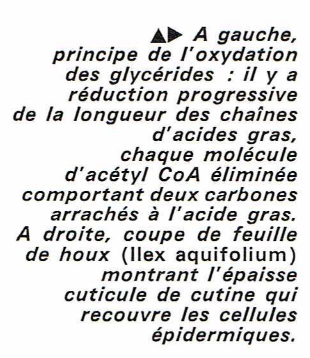
Dégradation des glycérides. En se dégradant, les glycérides fournissent une quantité considérable d'énergie. Un seul « acide gras » en C_6 permet ainsi la biosynthèse de 45 ATP, alors que la dégradation du glucose n'en fournit que 38. Cette énergie est en partie utilisée pour la régulation de la température durant l'hiver, au moins pour les Vertébrés homéothermes, c'est-à-dire à température fixe (Oiseaux et Mammifères). Le reste est utilisé pour des synthèses multiples.

La dégradation avec oxydation est encore un phénomène mitochondrial, mais cette fois en totalité. Il y a plusieurs oxydations successives sur les carbones β, et, à chaque oxydation, deux carbones sont éliminés (Lynen).



Richard Colin


S. Blaise


▲▶ *A gauche, principe de l'oxydation des glycérides : il y a réduction progressive de la longueur des chaînes d'acides gras, chaque molécule d'acétyl CoA éliminée comportant deux carbones arrachés à l'acide gras. A droite, coupe de feuille de houx* **(Ilex aquifolium)** *montrant l'épaisse cuticule de cutine qui recouvre les cellules épidermiques.*

Les cérides

Les cérides résultent de l'estérification entre des *alcools supérieurs* et des *acides gras à longue chaîne.* C'est le cas du **blanc de baleine** (en fait de cachalot macrocéphale), cire constituée par du palmitate de cétyle, solide, incolore, qui fond à 62 °C. Son importance économique est limitée : on ne peut même pas en faire de la margarine (par hydrogénation) ; toutefois, ce lipide sert à fabriquer des produits de beauté (crèmes et rouges à lèvres) ou des cirages.

Un autre type de céride correspond à un composant de la **cire d'abeille,** constituée par un mélange d'esters dont le monoalcool, à longue chaîne, est de formule $C_{30}H_{61}OH$ (alcool myricilique).

Chez les végétaux, les cires sont des sécrétions épidermiques. A la surface de certains fruits, comme la pomme ou la prune, ou de certaines feuilles, comme celles du chou, on constate l'existence d'une couche un peu poisseuse sur laquelle l'eau glisse et qui brille quand on la frotte. On utilise les jeunes feuilles du palmier à cire *(Copernicia),* lesquelles sont recouvertes d'un épais enduit cireux.

La **cutine** constitue les cuticules qui, à la surface des feuilles, tapissent les cellules épidermiques, en particulier si les feuilles persistent pendant l'hiver (houx, aucuba) ; cela leur donne une apparence vernissée.

A rapprocher des cérides, la **subérine,** constituant principal du liège, est localisée dans les parois de cellules mortes et remplies d'air de ce tissu à la fois imperméable et plus léger que l'eau.


▶ *Coupe de peau de souris, montrant, sous l'épiderme, le derme coloré en vert, et contenant des glandes sébacées dont les cellules ont un cytoplasme très clair et sont riches en lipides qui sont excrétés par le canal du follicule pileux (esters du cholestérol).*

Les stérides

Ce sont des esters de *stérols* et d'acides gras. On connaît bien la **lanoline** extraite du suint de mouton ; c'est la sécrétion des glandes sébacées de la peau de cet animal. Dans cette substance complexe, le *cholestérol* estérifie les acides oléique, palmitique (C_{16}) et stéarique. La structure du cholestérol montre qu'il s'agit d'une *molécule polyaromatique* possédant une seule fonction alcool.

Chez les Vertébrés, la synthèse du cholestérol, qui se produit après une longue suite de réactions, a lieu dans presque tous les organes. Son utilisation dépend étroitement des demandes du métabolisme général, gouverné en particulier par la glande thyroïde.

Signalons une propriété fort intéressante des stérides : bien que franchement hydrophobes, ils jouent un rôle fondamental dans le métabolisme de l'eau ; l'adjonction d'un stéride à un glycéride, corps également hydrophobe, permet l'adsorption par celui-ci d'une grande quantité d'eau ; l'affinité relative du glycéride pour l'eau peut être multipliée par cinq cents. Le *coefficient lipocytique,* ou rapport cholestérol sur acides gras, est intimement lié à la quantité d'eau qui peut entrer dans une cellule. Les stérides sont alors des facteurs d'hydratation de la peau (Montagna).

Les lipides complexes

Les phosphoaminolipides, ou glycérophosphatides

Universellement répandus, les phosphoaminolipides jouent un rôle essentiel dans la constitution des membranes cellulaires. On en trouve également dans les réserves du jaune d'œuf. Certains phospholipides sont particuliers au règne végétal : c'est le cas de la *phytine* des grains d'aleurone (grains de réserve contenant des substances diverses et que l'on trouve en particulier dans certaines graines). La phytine a longtemps été administrée comme fortifiant ; malheureusement, on a découvert récemment qu'elle n'est vraisemblablement pas assimilée par l'organisme humain.

L'acide phosphatidique, molécule de glycérol estérifiée par deux acides gras et par l'acide phosphorique, joue un rôle d'intermédiaire dans la synthèse des triglycérides. Pour passer aux phosphoaminolipides, il faut que l'une des deux fonctions acides du phosphate estérifie la fonction alcool d'une substance azotée, plus précisément aminée : sérine, éthanolamine ou choline. Dans la formule de phosphoaminolipide, XN représente un monoalcool aminé.

$$\begin{array}{l} \qquad\qquad\quad CH_2 - O - CO - R_1 \\ \qquad\qquad\quad | \\ R_2 - OC - H_2C \qquad\qquad\quad OH \\ \qquad\qquad\quad | \qquad\qquad\quad / \\ \qquad\qquad\quad CH_2 - O - P = O \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad \backslash \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad XN \end{array}$$

Les trois monoalcools aminés les plus répandus dans la cellule sont :

la sérine : $CH_2OH - CH(NH_2) - COOH$

l'éthanolamine : $CH_2OH - CH_2 - NH_2$

la choline : $CH_2OH - CH_2 - N(CH_3)_3$

Les esters sont *amphotères,* acides par le phosphoryle (et, dans certains cas, par l'acide organique sérine), basiques par la présence des groupes aminés NH_2 ou N triméthylé.

Les **lécithines.** Il en existe plusieurs types ; celle de l'œuf est bien connue, mais il en existe beaucoup d'autres, dans toutes les cellules. Ce sont des phosphatidylcholines qui diffèrent suivant la nature des radicaux R_1 et R_2 des acides gras qui estérifient les deux premières fonctions alcool du glycérol.

Avec les phosphoprotéines (vitelline ou phosphovitine), les lécithines constituent un matériel de réserve tout à fait fondamental pour l'embryon de nombreuses espèces animales. Il n'y a pas de lécithines dans les réserves adipeuses des adultes ; par contre, elles jouent un rôle dans l'édification des membranes. L'absorption des lécithines par le tube digestif des animaux se fait comme celle des glycérides, grâce à des *lécithinases.*

Les **céphalines.** Ce sont des phosphatidyléthanolamines, très abondantes au niveau du cerveau et des nerfs des animaux supérieurs. Leur rôle est extrêmement important : la *myéline* constitue un manchon isolant autour de beaucoup de fibres nerveuses de Vertébrés, manchon d'origine strictement membranaire.

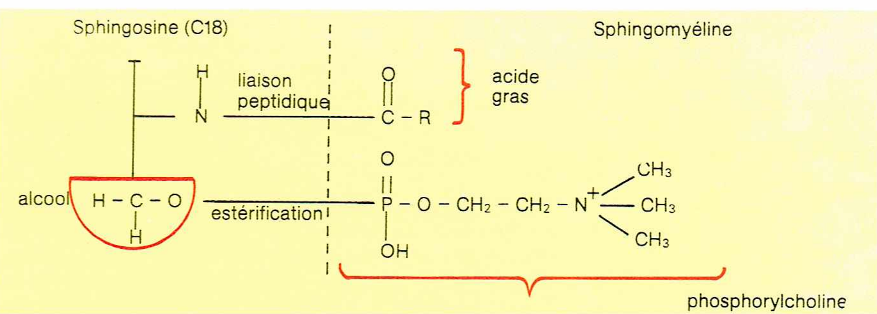
Les sphingolipides

Ils peuvent être phosphorylés ou non. Dans tous les cas, par rapport aux glycérophosphatides, un alcool en C_{18}, la *sphingosine,* remplace le glycérol ; de plus cet alcool est aminé. On trouve des **sphingomyélines** et des **cérébrosides** avec les céphalines, c'est-à-dire au niveau des membranes, en particulier dans la myéline.

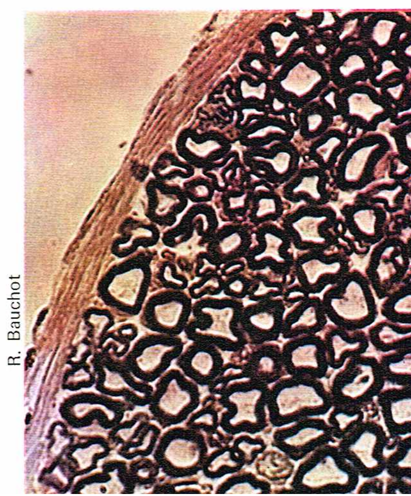
Remarquons ici que toutes les molécules lipidiques trouvées dans les membranes ont une morphologie assez semblable ; ce qui frappe surtout, c'est l'importance des chaînes linéaires d'acides gras hydrophobes et l'existence d'un pôle hydrophile complexe, par exemple, la phosphoryl choline pour les lécithines ou les sphingomyélines ; ce pôle hydrophile joue un rôle considérable dans la perméabilité cellulaire. En mélangeant tous ces lipides, dans des proportions diverses, on a pu obtenir des membranes artificielles (ajoutons cependant que les lipides ne sont pas les seuls constituants des membranes naturelles).

J. Bouchard

▼ *Ci-dessous, formule de la* **sphingomyéline.** *En bas, coupe transversale de nerf de Mammifère montrant, sous une gaine peu colorée, de nombreuses sections de fibres myélinisées ; la myéline, qui a été colorée par le noir soudan, forme un manchon autour des fibres nerveuses.*



Richard Colin



R. Bauchot

Substances pouvant être rapprochées des lipides

Ce sont les stéroïdes, qui jouent un grand rôle chez les Vertébrés, les caroténoïdes, synthétisés par les végétaux, et diverses substances végétales qualifiées de lipoïdes.

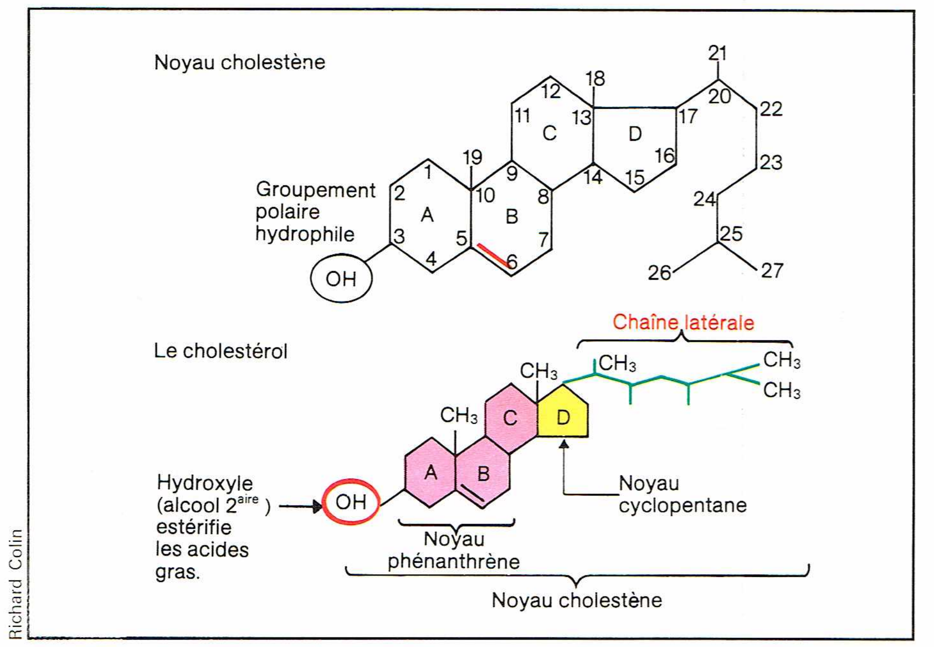
Les stéroïdes

Nous étudierons le cholestérol, et d'autres stéroïdes des Vertébrés tels que le coprostérol, les acides biliaires, les vitamines D et les hormones stéroïdes.

Le cholestérol

Le *cholestérol* possède un pôle hydrophile et une volumineuse zone hydrophobe. Ses propriétés de solubilité sont donc celles des autres lipides. Ses dérivés sont très nombreux et toujours très importants.

▼ *En haut, représentation du* **noyau cholestène** *qui est la structure de base des* **stéroïdes** *; cette molécule est dans son ensemble fortement hydrophobe. En bas, formule du* **cholestérol.**



C'est un stéroïde de structure, qui participe à la formation des membranes, et un précurseur des sels biliaires, de beaucoup d'hormones, etc.

Sa synthèse est ralentie quand la nourriture en contient déjà. L'équilibre est dû à une *régulation allostérique,* c'est-à-dire que le produit final freine l'activité enzymatique au début de la chaîne de synthèse.

Substrat initial	Intermédiaires	Produit final
A ⟶	B ⟶ C ⟶ D...	⟶ X
	blocage	

Si l'équilibre entre le cholestérol et les phospholipides est perturbé, l'augmentation pathologique du premier entraîne la formation de calculs biliaires ou un « encrassement » des vaisseaux, en particulier des artères qui irriguent le muscle cardiaque (athérosclérose). On peut d'ailleurs se demander comment le cholestérol est solubilisé dans le sang, puisqu'il est hydrophobe et que le plasma, transparent, ne contient pas d'émulsions; en fait, le cholestérol s'y trouve lié à des protéines solubles qui servent de transporteurs; de même, les phospholipides, les stérides et les stéroïdes sont mis en solution grâce à de telles protéines, du type des globulines.

L'importance du cholestérol est moindre chez les animaux inférieurs, mais elle est loin d'être négligeable. Les végétariens en absorbent car ce stéroïde existe chez presque toutes les plantes. Cependant cet apport de cholestérol venant de la nourriture n'est pas toujours suffisant. Par exemple, certains Insectes hébergent dans leur tube digestif des symbiontes (parfois des parasites) qui effectuent la synthèse du cholestérol au bénéfice de leur hôte. Par eux-mêmes, les Insectes sont incapables d'effectuer une telle synthèse à partir des substrats qui conviennent pour les Vertébrés (Allais, 1974). Seuls les Annélides et une partie des Mollusques peuvent y parvenir. En fait, les Crustacés et les Insectes synthétisent leur cholestérol à partir de stérols végétaux en C_{28} ou $_{29}$.

Chez les plantes, l'**ergostérol,** très voisin, existe avec d'autres stérols dont les proportions varient suivant les espèces.

Pour Lederer, les stérols, qui n'existent pas chez les Bactéries, se seraient développés chez les êtres vivants « pour permettre » la formation des membranes multiples et plus ou moins rigides caractérisant les pluricellulaires.

Le coprostérol et les acides biliaires

Ce sont des produits de dégradation du cholestérol; ce dernier est dégradé au niveau du foie et, phénomène remarquable, les fragments éliminés sont d'une importance biologique fondamentale. Ce sont des *déchets utiles.* Une partie du cholestérol passe dans le réseau dense des canalicules excréteurs biliaires, dans le canal cholédoque et l'intestin; là, des Bactéries le transforment en *coprostérol,* qui, après hydroxylation et substitution de radicaux méthylés, donne des *acides biliaires* à chaîne hydrophobe latérale très raccourcie. En même temps, ces acides se conjuguent à des acides aminés (glycocolle et taurine). Nous avons déjà noté que ces acides biliaires, dérivés les uns des autres, favorisent l'absorption intestinale des lipides alimentaires en stabilisant, en émulsionnant ces substances.

Les vitamines D

La **vitamine** D_2, ou **calciférol,** dérive de l'ergostérol végétal, et la **vitamine** D_3, ou **cholécalciférol,** vient du cholestérol (Windaus). Ces vitamines sont importantes pour la fixation du calcium dans le squelette des Vertébrés. On y retrouve la structure stéroïde, mais avec ouverture du cycle B; cela entraîne la formation de trois doubles liaisons résonnantes, qui impliquent une très haute activité biochimique de la vitamine D.

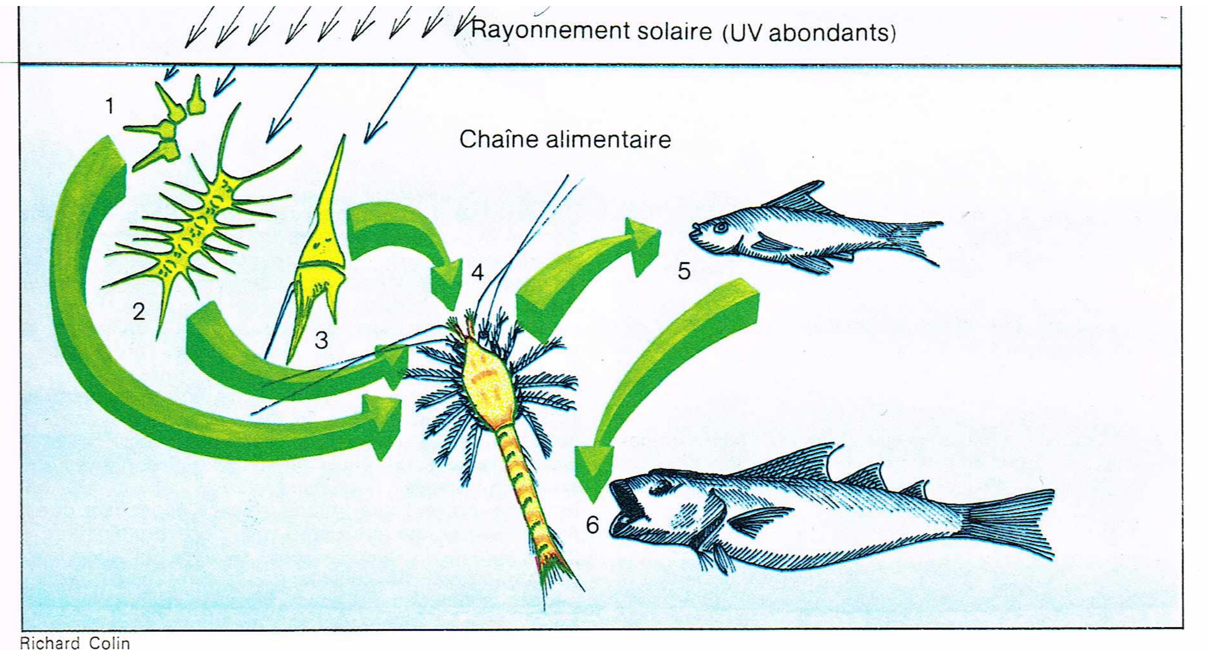
Cette transformation des deux stérols s'effectue sous l'action d'un rayonnement ultraviolet, les longueurs d'onde les plus pénétrantes étant les plus efficaces. Chez les Vertébrés, il s'agit donc d'un phénomène qui concerne uniquement la peau; par contre, il peut se produire dans tout l'organisme chez les animalcules et les végétaux marins planctoniques par exemple; secondairement, la vitamine peut s'accumuler, tout au long de la « chaîne alimentaire », dans les autres organes de Vertébrés, en particulier le foie : on sait que les huiles de foies de Poissons (morue ou flétan par exemple) sont particulièrement riches en cholécalciférol (le record est détenu par le foie de thon); toutefois, on en trouve aussi dans le jaune d'œuf et le beurre.

Les hormones stéroïdes

Dérivées du cholestérol, il en existe trois types : les *hormones génitales mâles* et *femelles* ainsi que les *hormones corticales de la glande surrénale.*

Une hormone est une substance produite par un groupe de cellules et qui agit à distance sur des organes bien précis; cette spécificité d'action dépend de la constitution chimique de la substance en question (Starling). Plus précisément, c'est une substance sécrétée par une *glande endocrine* et agissant sur des *récepteurs,* ou *effecteurs,* après avoir été véhiculée par un liquide interstitiel et par le sang. Il existe des hormones inhibitrices ou, au contraire, activatrices. Une hormone peut agir sur un seul organe-cible, plus généralement, sur l'activité de plusieurs organes, voire de tout l'organisme.

Les **hormones génitales.** Si l'existence d'hormones génitales mâles a été envisagée puis vérifiée depuis longtemps, les hormones femelles ont été mises en évidence assez tardivement. En étudiant des animaux qui avaient subi l'ablation des ovaires, Iscovesco rétablit chez eux, vers 1912, un certain équilibre physiologique en leur administrant des extraits ovariens obtenus avec des solvants des lipides. L'ovaire se comportait en glande endocrine, suivant la définition de Claude Bernard. Butenandt, puis Allen et Corner, en 1929-1930, purent cristalliser l'hormone ovarienne à partir d'extraits fractionnés. Des synthèses d'hormones femelle et mâle ont été réalisées vers 1933-1935.



Richard Colin

◀ *Principe d'accumulation de la vitamine D dans une chaîne alimentaire (en milieu marin) : 1, 2, 3, phytoplancton ; 4, Crustacé planctonophage ; 5, Poisson carnivore intermédiaire ; 6, Poisson carnivore de bout de chaîne ; les Poissons accumulent la vitamine D au niveau du foie.*

◀▼ *A gauche, schéma de la synthèse de la vitamine D_2.*

Ouverture
CH_3
R
A B C D
Lumière UV
OH
Ergostérol
Précalciférol (provitamine D_2)
Déformation
CH_2
Autre formulation de l'ergocalciférol
Ergocalciférol ou calciférol (vit. D_2)

Richard Colin

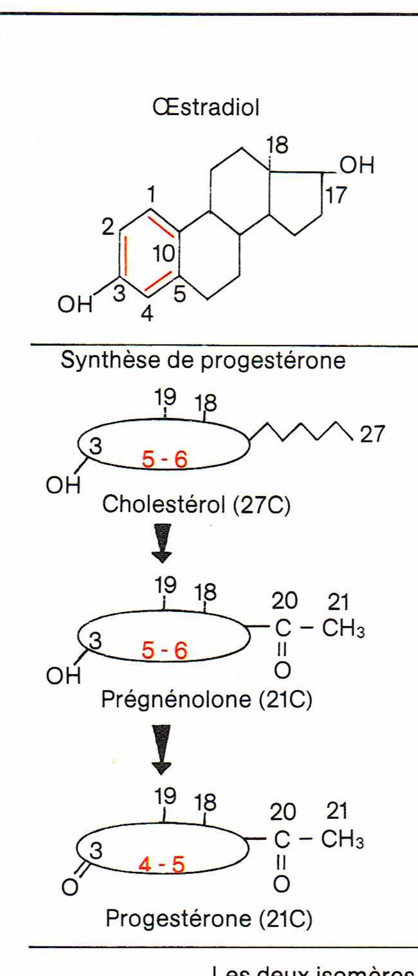
La **testostérone** est l'hormone génitale mâle testiculaire. Elle détermine la formation des spermatozoïdes et contrôle le développement du « tractus génital » ; de plus, cette hormone contrôle les différents caractères sexuels secondaires, aussi bien morphologiques (ils sont multiples) que psychiques. Ajoutons que le rôle général de stimulation métabolique de la testostérone est loin d'être négligeable.

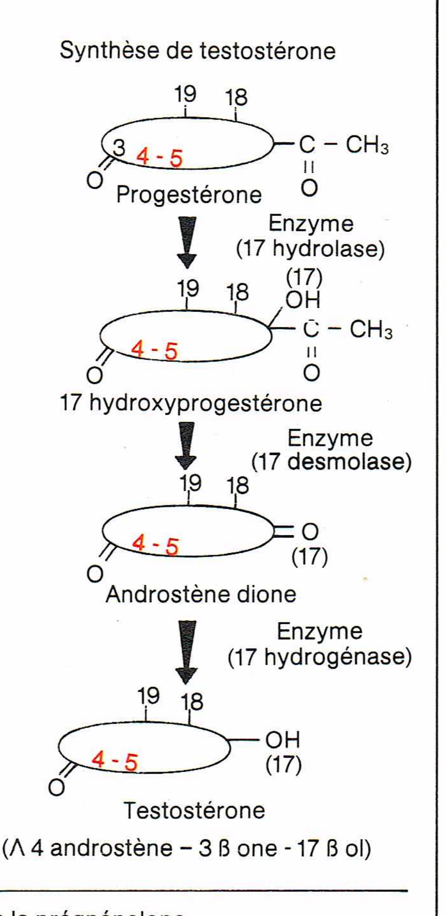
Dans l'ovaire, il existe deux hormones génitales femelles : l'**œstradiol,** qui est sécrété avant la ponte de l'ovule, et la **progestérone,** qui est sécrétée après cette ponte. L'action de l'œstradiol n'est pas simple ; chez les Mammifères, elle contrôle les caractères sexuels secondaires et prépare le tractus génital, en particulier l'utérus, qui doit recevoir l'ovule après la ponte. La progestérone complète l'effet de l'œstradiol sur l'utérus et permet la liaison de l'œuf avec la mère (nidation de l'œuf) s'il y a eu fécondation.

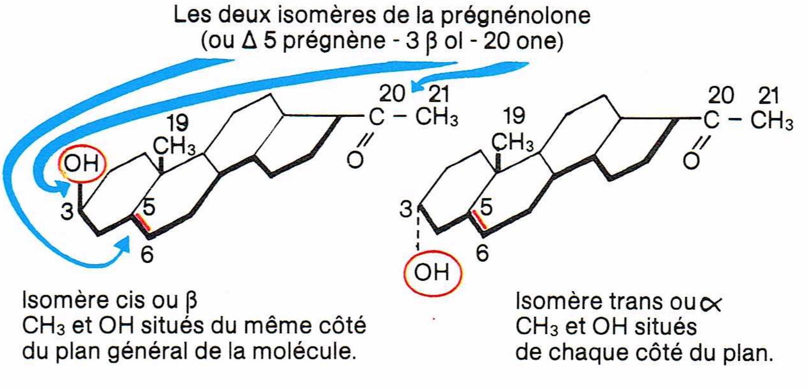
Les **hormones stéroïdes de la surrénale.** Depuis Brown-Sequard, on savait que la glande surrénale, dont les activités sont complexes, avait un fonctionnement de glande endocrine ; de fait, on y a trouvé des hormones stéroïdes, en particulier : l'aldostérone et le cortisol.

L'**aldostérone** agit sur le rein, en modifiant les possibilités de transport actif de Na^+. Dans la sécrétion de cette hormone, le rein et la surrénale se contrôlent mutuellement : toute perte d'eau et de Na^+ entraîne la sécrétion de la surrénale et inversement.

Le **cortisol** favorise la glycogénonéogenèse à partir de substances azotées. De plus, il a un rôle anti-inflammatoire qui freine la multiplication et l'activité des cellules lymphoïdes ganglionnaires et thymiques. La synthèse de cortisol est contrôlée par l'hypophyse.





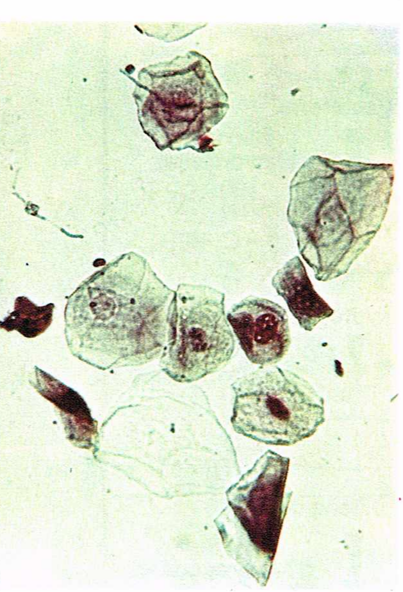


▲ *Formules et schémas de la synthèse des hormones génitales mâles et femelles. Ces hormones sont toutes dérivées du cholestérol et naissent les unes des autres.*

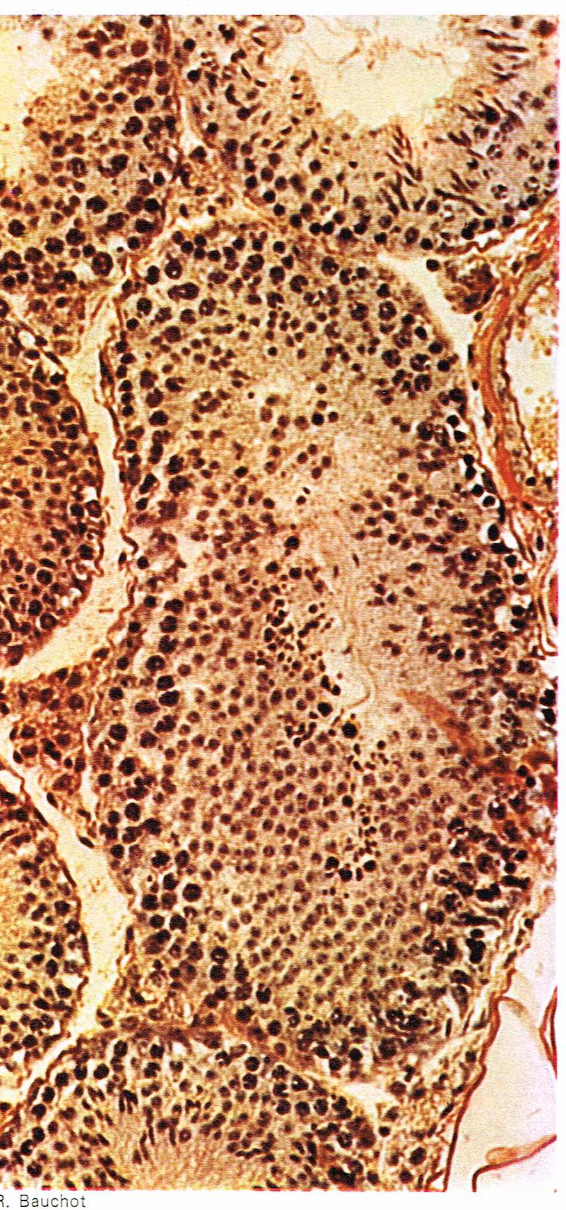
Richard Colin

▶ *Coupe de testicule montrant les tubes séminifères entre lesquels se trouvent des cellules interstitielles; les testicules sont le lieu d'une synthèse intense d'hormone androgène, la testostérone; cette hormone mâle est aussi synthétisée en petite quantité chez les femelles dans le corps jaune.*

▼ *Frottis vaginal de souris, réalisé au moment de la ponte ovulaire (œstrus); sous l'influence des hormones œstrogènes, les cellules épithéliales cornées desquament; chez les femelles récemment castrées, qui sont presque totalement dépourvues d'œstrogène, on n'observe jamais ce phénomène.*



J. Bouchard



R. Bauchot

Synthèse d'hormones stéroïdes. Chaque gonade, comme la surrénale, contient un mélange fort complexe d'hormones. Aussi l'étude ne doit pas porter sur des glandes prises isolément : les hormones naissent les unes des autres. C'est donc leur filiation que nous allons voir ainsi que leurs lieux d'accumulation. L'utilisation de précurseurs marqués par des isotopes radioactifs a facilité l'établissement des voies de synthèse.

Dans l'organisme, la synthèse des hormones stéroïdes implique la mise en jeu de toute une série d'enzymes spécifiques. La *desmolase* commence par briser la chaîne latérale du cholestérol, qui devient alors une hormone femelle, la *prégnénolone;* celle-ci est une hormone progestative, moins efficace cependant que la *progestérone,* qui en dérive par déshydrogénation et isomérisation. La progestérone, sécrétée en abondance par un groupe de cellules de l'ovaire *(corps jaune),* permet la nidation de l'œuf. Mais les processus métaboliques ne s'arrêtent pas là : on trouve dans ce corps jaune des hormones mâles, ou *androgènes.*

Il y a, bien sûr, un métabolisme du même genre dans le testicule mais, dans ce cas, la *testostérone* est fabriquée de manière plus intense. Si nous continuons l'étude des processus métaboliques, nous constatons un fait surprenant : si la gonade mâle synthétise d'abord des hormones progestatives puis son hormone typique, la testostérone, il est curieux d'apprendre qu'un testicule de taureau, par exemple, la transforme partiellement en hormones femelles œstrogènes... Il se produit d'abord des modifications au niveau du carbone 19 de la testostérone, puis celui-ci finit par disparaître, et on aboutit à l'*œstradiol.* Cette hormone est en équilibre avec une autre, l'*œstrone,* ou œstradiol oxydé en 17.

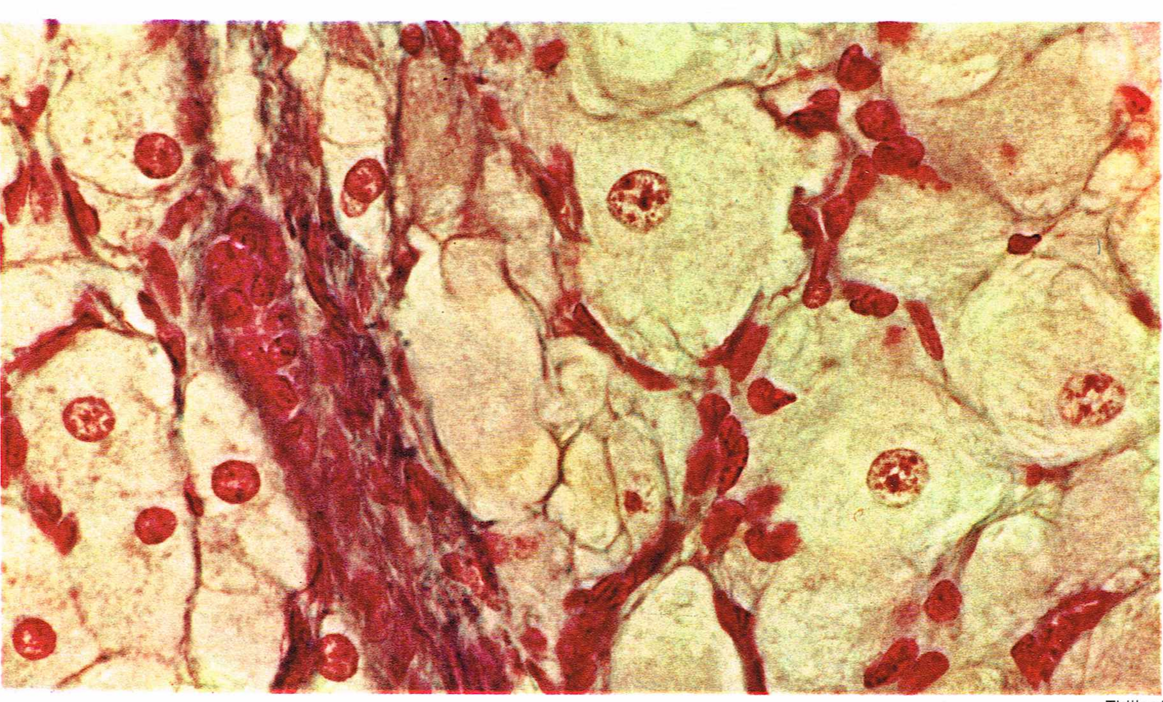
Le noyau des hormones femelles œstrogènes est un *œstrène* en C_{18}, non saturé.

On trouve, bien sûr, la même chaîne de réactions dans le follicule ovarien, c'est-à-dire le complexe de cellules qui entourent l'ovocyte, cellule sexuelle femelle.

Par rapport à ces réactions, effectuons maintenant un retour en arrière jusqu'à la progestérone; celle-ci, dans le *cortex de la surrénale,* va donner naissance à l'*aldostérone,* processus qui fait intervenir des hydroxylases : progestérone → désoxycorticostérone (progestative) → corticostérone → aldostérone.

Toutes ces hormones sont en C_{21} et agissent au niveau du rein et du foie.

Toujours dans le cortex surrénalien, la seconde hormone essentielle est le *cortisol,* qui se forme à partir de prégnénolone ou de progestérone. Il y a trois étapes qui impliquent des hydroxylases. Le noyau reste à 21 carbones. Il y a équilibre du cortisol avec une autre hormone, la *cortisone,* ou cortisol oxydé en C_{11}.



Thillard

▶ *Coupe de corps jaune d'une lapine gestante; les cellules glandulaires fabriquent une grande quantité de progestérone, hormone stéroïde qui permet la nidation de l'œuf dans la paroi de l'utérus.*

Corticostérone

Cortisol

Cortisone

(Δ 5 prégnène 3-20 β one 11 - 17 - 21 ol)

Richard Colin

▲ ***Trois hormones stéroïdes synthétisées par le cortex de la glande surrénale : la* corticostérone *est un intermédiaire de la synthèse de l'aldostérone à partir de la progestérone; le* cortisol *se forme à partir de la prégnénolone ou de la progestérone et est en équilibre avec sa forme oxydée ou* cortisone.**

Ces hormones agissent sur les fonctions de certaines cellules des lignées sanguines (système lymphoïde), mais leur action directe concerne le métabolisme glucidique. Si les mécanismes ne sont donc pas simples dans le cortex de la surrénale, ils sont encore compliqués du fait que la glande utilise la prégnénolone pour fabriquer, d'autre part, des hormones androgènes typiquement surrénaliennes, en particulier la *déhydroépiandrostérone*.

De toute évidence, les mécanismes hormonaux sont d'une grande complexité; si l'on se limite à l'étude des seules hormones stéroïdes, sécrétées par plusieurs glandes, il est souvent difficile d'interpréter les résultats d'expériences effectuées sur telle ou telle de ces glandes. En voici un exemple. L'ablation des ovaires d'une souris provoque une baisse brutale du taux d'hormones femelles dans le sang; en conséquence, le cycle œstrien est interrompu, et les parois du vagin et de l'utérus ne montrent plus aucun signe d'activité : parallèlement, les glandes mammaires ne subissent plus aucune croissance périodique. Cependant, après quelques semaines, le taux d'hormones sexuelles sécrétées par les surrénales peut être suffisant pour qu'une certaine activité devienne notable au moins au niveau vaginal, ainsi que l'on peut s'en rendre compte en étudiant les cellules prélevées pour la préparation de frottis vaginaux. Le taux d'hormones sexuelles peut être assez élevé dans le sang pour rendre délicate l'interprétation de phénomènes observables, non seulement dans le tractus génital, mais dans beaucoup d'autres organes; ainsi, la croissance des cellules de l'épiderme peut être influencée par ces hormones, comme elle l'était chez les femelles non castrées. Aussi, quand on veut évaluer l'influence des hormones sexuelles sur la croissance de tumeurs épidermiques expérimentales, il est difficile d'effectuer une comparaison entre femelles normales et castrées puisque toutes les castrées *ne l'ont pas été complètement sur le plan physiologique*.

Un autre phénomène complique encore les conditions de sécrétion hormonale chez les femelles : lors de la *gestation*, le *placenta* synthétise diverses hormones stéroïdes.

Transport, mode d'action et élimination des hormones stéroïdes. Les hormones stéroïdes sont liées, au niveau sanguin, à des protéines plasmatiques; elles sont ainsi solubilisées et transportées vers les organes cibles. On a dit qu'elles peuvent avoir une action non négligeable sur le métabolisme général; cependant, elles modifient essentiellement la physiologie des organes cibles de la sphère génitale. On a constaté que les hormones stéroïdes pénètrent dans les cellules de ces organes et vont activer une protéine réceptrice du hyaloplasme; secondairement, la protéine agit sur le noyau et certains déterminants génétiques : des expériences montrent que des agents toxiques, utilisés pour bloquer la synthèse des substances du noyau, détruisent l'efficacité des hormones stéroïdes. Les mécanismes précis de ces phénomènes sont mal connus. L'élimination des hormones stéroïdes se fait essentiellement au niveau du foie; c'est particulièrement net pour les œstrogènes (Israël, 1937). Dans tous les cas, il y a d'abord conjugaison de la molécule avec un sulfate ou un acide glycuronique; ensuite, il y a plusieurs étapes de dégradation complexes.

Les caroténoïdes

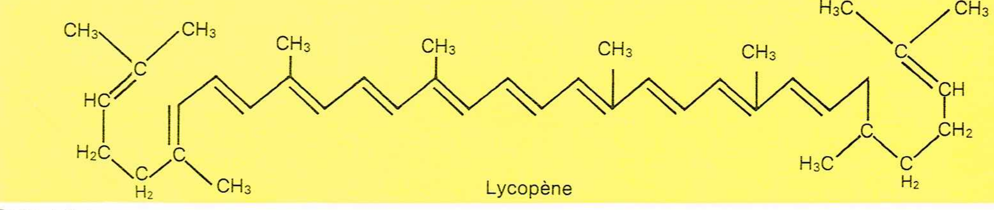
Les *pigments caroténoïdes*, extrêmement répandus dans le règne végétal, ne sont pas synthétisés par les animaux; par contre, ceux-ci peuvent en accumuler dans leurs tissus si leurs aliments sont riches en caroténoïdes. Ces substances sont dérivées de l'*isoprène :*

$$CH_2 = \underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C}} - CH = CH_2$$

Ce corps n'existe pas tel quel dans les tissus végétaux, mais il peut s'y trouver sous forme plus ou moins polymérisée ou *terpénique :* il s'agit alors des *latex* dont le terme ultime de condensation correspond aux caoutchoucs.

Dans la synthèse de caroténoïdes, il y a d'abord condensation de huit molécules d'isoprène, ce qui aboutit à la formation d'une chaîne aliphatique; ensuite, celle-ci se cyclise à chaque extrémité.

Le pigment pris comme type par Florkin et Schoffeniels est le **lycopène,** qui donne sa couleur rouge à la tomate; comme tous les caroténoïdes, il est très liposoluble, et se dissout, par exemple, dans l'huile d'une vinaigrette. Sa formule brute est $C_{40}H_{56}$.



Richard Colin

▲ ***Formule du* lycopène, *pigment caroténoïde qui donne sa couleur rouge à la tomate.***

Cette tendance à la cyclisation est maximale dans le cas des molécules oxygénées; il s'agit des **carotènes** contenus dans les fruits sucrés tels que l'orange, l'abricot, mais aussi dans la carotte. Beaucoup de ces pigments possèdent des fonctions alcool ou cétone, alors que la **crocétine** du safran est acide. On connaît plus de trente caroténoïdes pigmentaires. Lorsqu'ils comportent 40 carbones, ces pigments jouent un rôle dans la photosynthèse glucidique à partir du carbone atmosphérique.

Chez les animaux, les carotènes jouent un rôle important dans le phénomène de la vision; par bipartition des molécules, ils fournissent la *vitamine A,* qui participe à la fabrication du *pourpre rétinien,* ou *rhodopsine,* pigment photosensible de la rétine. Les pigments caroténoïdes sont utilisés par les animaux dans l'élaboration de leurs couleurs spécifiques; par exemple, les tons jaunes et rouges des Oiseaux sont une conséquence de la nourriture qu'ils absorbent; ces pigments sont répartis à l'état diffus dans les éléments de la plume.



E.P.S.

◀ ***Les tons jaunes et rouges des plumes d'Oiseaux sont dus à des pigments caroténoïdes diffus.***

Les lipoïdes

De nombreuses plantes sont dites aromatiques parce qu'elles dégagent un parfum spécifique. Cette propriété, utilisée par l'homme dans la composition des parfums ou pour donner du goût aux aliments cuisinés, est due à des **terpènes**, principaux constituants des inclusions huileuses que l'on trouve dans certains tissus sécréteurs; ces huiles sont souvent volatiles et entourent d'un air parfumé la plante dont elles s'échappent. Il suffit souvent de rompre ou de froisser la feuille pour favoriser la volatilisation de l'huile. Si cette gamme d'arômes enchante l'homme, il ne s'agit le plus souvent que d'excrétions de la plante.

Citons comme **essences**, encore appelées huiles essentielles, celles du thym, de la menthe, du romarin, de la lavande (toutes plantes appartenant à la famille des Labiées), du géranium, du houblon, du laurier, des agrumes. En ce qui concerne ces derniers, il suffit de plier une peau d'orange devant la flamme d'une bougie pour s'apercevoir qu'un petit jet de substance inflammable s'échappe des minuscules poches de l'écorce.

Le **latex**, ou lait, de nombreuses plantes *(Hevea, Ficus, Euphorbia)* contient des polyterpènes très polymérisés, qui, une fois coagulés, deviennent élastiques (caoutchouc de l'*Hevea*).

Les **résines** des Conifères sont des produits d'oxydation des terpènes. Les térébenthines extraites du pin maritime sont des oléo-résines, solutions visqueuses de résine dans des essences.

Le **camphre** est une cétone mono-terpénique extraite de divers arbrisseaux asiatiques, dont le cinnamome.

Enfin, les **gibberellines** sont les principales hormones de croissance et de floraison.



S. Viola

▶ *L'amanite tue-mouches,* Amanita muscaria, *contient un alcaloïde très toxique, la* muscarine, *responsable d'empoisonnements très graves.*



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

▶ *Coupe transversale d'aiguille de pin, montrant un canal résinifère entouré par des cellules de soutien; les petites cellules internes sécrètent les résines qui sont des produits d'oxydation des terpènes.*

LES ALCALOIDES

Il est difficile de donner une définition des alcaloïdes. Pour Heller, il s'agit « de composés aminés à réaction plus ou moins basique où l'azote est en général inclus dans un cycle ». Les alcaloïdes sont très vraisemblablement des produits de dégradation des acides aminés, des terpènes, etc. Seuls seront cités ici les plus connus pour leur utilisation pharmaceutique ou leurs propriétés narcotiques.

La **colchicine,** extraite du colchique *(Colchicum automnale),* est un dérivé de la phénylalanine. C'est un poison de la cellule en division et du système nerveux.

La **nicotine** du tabac, la **conicine,** poison violent extrait de la ciguë, et la **ricinine,** autre poison violent contenu dans les graines de ricin, sont à rapporter aux alcaloïdes à noyau pyridinique.

Parmi les alcaloïdes à noyau indole, on peut citer la **strychnine,** extraite de la noix vomique *(Strychnos nux-vomica),* et l'**ergotamine,** extraite de l'ergot du seigle, Champignon parasite des épis de cette plante. Les chroniques du Moyen Age renferment de nombreux récits d'épidémies de gangrène accompagnée de convulsions, de vertiges, de léthargie, et conduisant leurs victimes à la folie : il s'agissait d'intoxications chroniques par des farines de seigle ergoté; la maladie était souvent appelée « feu de saint Antoine ». Dans les années 1950, des accidents se sont encore produits en France.

Le plus connu des alcaloïdes à noyau quinoléique ou isoquinoléique est la **quinine,** extraite de l'écorce de quinquina; il s'agit d'un fébrifuge puissant utilisé dans le traitement du paludisme.

Les alcaloïdes du **curare** (poison tiré de divers arbustes et lianes, voisins du *Strychnos*) appartiennent à ce groupe. Les Indiens d'Amazonie en imprégnaient leurs fléchettes, afin de paralyser la proie ou l'ennemi.

Des capsules de pavot incisées avant maturation, s'écoule un lait, ou latex, dont les gouttes, en se solidifiant à l'air, constituent l'**opium.** De ce produit on extrait

divers alcaloïdes : la **narcotine** et la **papavérine,** qui sont à noyau quinoléique; la **morphine** et la **codéine,** qui ont un noyau phénantrène.

Parmi les alcaloïdes présentant un noyau tropane ou norlupinane, on peut citer l'**atropine,** extraite de la belladone et de la jusquiame, qui, entre autres effets, dilate la pupille et excite le système nerveux central, et la **cocaïne,** extraite du coca, qui possède des propriétés anesthésiques et hypnotiques. Les Indiens des Andes utilisent encore aujourd'hui les feuilles de coca en infusion et mâchent un mélange de feuilles et d'une poudre grise; le mélange d'alcaloïdes, jauni par le coca, leur donne une grande résistance au froid et à la fatigue; grâce à ses effets, certains Incas porteurs de messages pouvaient courir deux jours de suite à travers la montagne.

La **caféine** et la **théobromine,** que l'on trouve toutes deux à des doses différentes à la fois dans le café, le thé et le cacao, sont des excitants. Il s'agit d'alcaloïdes à noyaux puriques.

La **muscarine,** de l'amanite tue-mouches, est un alcaloïde quaternaire à trois groupes N méthyl; elle est très toxique.

Comme on le voit, dans la plupart des cas, les alcaloïdes sont des substances plus ou moins toxiques, parfois extrêmement dangereuses, qui provoquent une accoutumance très préjudiciable pour l'individu qui les utilise.

LES PROTIDES

Il existe une famille de substances caractérisées principalement par leur richesse en *azote;* il s'agit des *protides,* dont les molécules comportent du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène ainsi qu'une forte proportion d'azote et parfois du phosphore. Ce sont des molécules souvent volumineuses; elles sont fondamentalement constituées par des *acides aminés;* assemblés d'une manière précise, divers acides aminés forment des *peptides* et des *polypeptides,* ou des *protéines* lorsque le nombre des acides est important et lorsqu'ils constituent des chaînes reliées entre elles par un certain nombre de *ponts.*

On distingue les protéines de *structure,* c'est-à-dire qui participent à l'architecture cellulaire, des protéines *enzymatiques,* dont le rôle est de faciliter, de *catalyser* certaines réactions biochimiques. Une troisième catégorie de protéines correspond aux *anticorps,* molécules fabriquées « à la demande » par un organisme, lorsque celui-ci doit lutter pour éliminer des protéines étrangères introduites au sein des tissus et constituant ce que l'on appelle des *antigènes;* ces antigènes ne sont rien d'autre que des protéines de structure ou des enzymes venant de l'extérieur, provenant, par exemple, de Bactéries introduites dans l'organisme. (Notons que bien d'autres macromolécules peuvent aussi jouer le rôle d'antigènes.)

Les acides aminés, molécules typiques du monde vivant

Les protéines sont répandues chez tous les êtres vivants. A 100 °C, l'hydrolyse acide d'une protéine donne une solution claire contenant de nombreuses substances aminées. Une hydrolyse partielle fournit des *peptides* et, si elle est plus poussée, une série d'*acides aminés,* que l'on peut ensuite séparer par chromatographie : leur vitesse de migration permet de déterminer la composition de la protéine initialement isolée. L'étude d'un très grand nombre d'hydrolysats de cette nature a montré que, dans le monde vivant, il n'y a guère plus d'une vingtaine d'*acides aminés* (A.A.).

La nature complexe de chaque protéine et la spécificité de sa fonction dépendent de l'*agencement* des acides aminés qui la constituent. Dans une cellule, il existe une multitude de protéines différentes.

Structure chimique des acides aminés

Les acides aminés sont tous construits selon cette formule schématique, dans laquelle R est un radical plus ou moins complexe :

$$R - CH\begin{cases} NH_2 \\ COOH \end{cases}$$

Ces molécules, comportant une fonction acide organique COOH ionisable et une fonction amine NH_2 ionisable, sont donc des substances *amphotères :* en solution aqueuse, les deux fonctions se dissocient lorsque le pH est adéquat; pour être plus précis, la fonction NH_2 est ionisée en milieu acide (acide chlorhydrique), mais pas la fonction COOH; l'acide aminé se comporte en cation :

$$\underset{\displaystyle NH_2}{R - \overset{}{CH} - COOH} \xrightarrow{HCl} \underset{\displaystyle NH_3^+}{R - CH - COOH} \text{ et } Cl^-$$

En milieu alcalin sodique, l'inverse se produit et l'acide se comporte en anion :

$$\underset{\displaystyle NH_2}{R - CH - COOH} \xrightarrow{NaOH} \underset{\displaystyle NH_2}{R - CH - COO^-} \text{ et } Na^+$$

Les fonctions COOH et NH_2 ne sont pas, en général, de la même force, et *la fonction acide prédomine.*

La méthode *électrophorétique* permet d'obtenir la migration sélective d'un mélange d'acides aminés en fonction des faibles différences de charge de ces acides pour une solution à pH donné. Cette analyse, très précise, permet de corroborer des résultats obtenus par chromatographie avec les mêmes mélanges. A pH franchement acide, tous les acides aminés migrent vers la cathode (chargée négativement), alors qu'ils migrent vers l'anode en milieu franchement alcalin.

Ce phénomène mérite quelques explications; un A.A. en solution donne quatre types de particules :

la particule neutre (non polarisée)	$\underset{\displaystyle NH_2}{R - CH - COOH}$
la particule bi-ionisée, ou ion double, ou dipôle, ou zwitterion	$\underset{\displaystyle NH_3^+}{R - CH - COO^-}$
l'ion positif	$\underset{\displaystyle NH_3^+}{R - CH - COOH}$
l'ion négatif	$\underset{\displaystyle NH_2}{R - CH - COO^-}$

La particule neutre, qui n'existe qu'en proportion infime, est donc négligeable en général. L'ion double ne migre pas lors d'une électrophorèse. Dans le cas où il y a autant d'anions que de cations dans la solution d'un acide aminé, le pH correspond à ce que l'on appelle le point *iso-ionique* de cet acide. Dans un certain nombre de cas, le radical R peut subir une ionisation, ce qui complique la situation.

Notons que le carbone qui porte les fonctions NH_2 et COOH est un carbone asymétrique; on doit donc envisager l'existence d'*isomères optiques.* Si l'on considère tous les A.A. comme dérivant du type le plus simple, la sérine, elle-même construite sur le modèle du glycéraldéhyde, on établit une filiation qui rappelle celle des glucides :

$$CH_2OH - \overset{\displaystyle NH_2}{\underset{\displaystyle H^{\bullet}}{C}} - COOH \qquad CH_2OH - \overset{\displaystyle OH}{\underset{\displaystyle H}{C}} - COH$$

L sérine (A.A.) *L glycéraldéhyde (glucide)*

On a donc une série L d'acides aminés qui sont construits comme la L sérine, COOH étant à droite dans toutes les formules; la série L contient aussi bien des substances dextrogyres (+) que lévogyres (—). Il y a, de même, une série D, mais seule la série L est naturelle, alors que c'est l'inverse dans les glucides.

Il existe divers types d'acides aminés. On peut les classer en sept ou huit groupes, suivant des critères qui varient selon les auteurs. Le tableau qui suit (page 82) s'inspire de ceux de Kruh et Durand.

Méthodes d'analyse ou de dosage d'un mélange d'acides aminés

La *chromatographie sur papier.* On utilise successivement deux solvants; le chromatogramme est donc à

Tableau des Acides aminés

Acides aminés aliphatiques — monoacides — monoaminés

Acides aminés simples

NOM	SYMBOLE	FORMULE	REMARQUES
— Glycocolle	GLY	$H-CH(NH_2)-COOH$	essentiel dans le tissu conjonctif.
— Alanine	ALA	$CH_3-C^*H(NH_2)-COOH$	* carbone asymétrique comme pour les acides suivants.
— Valine	VAL	$(CH_3)_2CH-C^*H(NH_2)-COOH$	un carbone de plus, diméthylé.
— Leucine	LEU	$(CH_3)_2CH-CH_2-C^*H(NH_2)-COOH$	
— Isoleucine	ILEU	$CH_3-CH_2-C^{\oplus}H(CH_3)-C^*H(NH_2)-COOH$	⊕ second carbone asymétrique.

Tous ces acides aminés sont très abondants dans l'organisme.

Acides aminés monoalcools

NOM	SYMBOLE	FORMULE	REMARQUES
— Sérine	SER	$CH_2OH-C^*H(NH_2)-COOH$	dans les phosphoprotéines et très abondante dans la soie.
— Thréonine	THR	$CH_3-C^{\oplus}HOH-C^*H(NH_2)-COOH$	deux carbones asymétriques.

Acides aminés soufrés

NOM	SYMBOLE	FORMULE	REMARQUES
— Cystéine	CYS	$HS-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	deux molécules se combinent pour former la cystine : R—S—S—R La cystéine permet la formation de *ponts disulfure* entre deux éléments protéiques.
— Méthionine	MET	$CH_3-S-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	essentielle, mais peu abondante.

Acides aminés aliphatiques — diacides — monoaminés

NOM	SYMBOLE	FORMULE	REMARQUES
— Acide aspartique	ASP	$COOH-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	base de la composition des protéines acides.
— Acide glutamique	GLU	$COOH-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	

Acides aminés aliphatiques — monoacides — monoaminés pourvus d'une fonction amide (à la place du second acide des A.A. diacides)

NOM	SYMBOLE	FORMULE	REMARQUES
— Asparagine	ASN	$CONH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	
— Glutamine	GLU	$CONH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	

Acides aminés aliphatiques — monoacides — diaminés

NOM	SYMBOLE	FORMULE	REMARQUES
— Lysine	LYS	$NH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	base de la composition des protéines basiques.
— Arginine	ARG	$NH=C(NH_2)-NH-CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	

Acides aminés cycliques

Acides aminés aromatiques à noyau benzénique

NOM	SYMBOLE	FORMULE	REMARQUES
— Phénylalanine	PHE	$C_6H_5-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	on devrait l'appeler benzylalanine.
— Tyrosine	TYR	$HO-C_6H_4-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	= parahydroxyphénylalanine.

Ces acides aminés, fort importants, sont à la base de la formation des pigments mélaniques et ils se trouvent dans la plupart des protéines.

Acides aminés cycliques ou cycliques et aromatiques

NOM	SYMBOLE	FORMULE	REMARQUES
— Tryptophane	TRY	(cycle N) $-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	
— Histidine	HIS	(cycle N, NH) $-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	
— Proline	PRO	(cycle N–H) $-COOH$	c'est une imine fort importante pour la forme de la protéine.

deux dimensions. Cette méthode est qualitative. La révélation des taches d'A.A. se fait grâce à la *ninhydrine ;* ce composé oxyde chaque A.A. du chromatogramme et le *fragmente* avec libération d'ammoniac (NH_3). Or, la ninhydrine réduite se combine à une molécule de ninhydrine intacte et une molécule de NH_3 libéré, en donnant une coloration violette (sauf pour la proline et l'hydroxyproline, acides iminés qui donnent une réaction jaune) ; il faut donc traiter par la ninhydrine *en excès.*

La *chromatographie de partage sur colonne de résines échangeuses d'ions* est une méthode qualitative et quantitative qui s'affirme depuis quelques années.

En milieu acide, les résines cationiques dont le groupement actif est SO_3HNa^+ échangent leur sodium pour se lier avec l'ion $R - \underset{\displaystyle NH_3^+}{\overset{\displaystyle H}{\underset{|}{\overset{|}{C}}}} - COOH$, puisque, dans ces conditions, à pH acide, l'A.A. fonctionne comme une base. Plus l'A.A. est basique et plus il se fixe sur la résine. Dans un deuxième temps, on fait passer sur la résine une solution tampon dont on augmente lentement le pH : les fonctions COOH des acides aminés fixés sur les résines vont donc être ionisées graduellement. Ces acides eux-mêmes seront décrochés et entraînés par l'*éluant.* Ils ne se décrocheront pas tous au même pH : un premier A.A. sera entraîné lorsque le pH de l'éluant sera identique au point iso-ionique de l'acide (pHi) ; un second A.A. sera entraîné quand le pH, en augmentant, deviendra égal au pHi de celui-ci, etc. Quand on augmente régulièrement le pH de l'éluant, on dit qu'on provoque un *gradient de pH.* Durant la chromatographie, les A.A. se répartissent entre la résine et l'éluant : c'est donc un partage des A.A. entre l'adsorbant et l'éluant.

On recueille les *fractions* successives du liquide qui sort de la colonne pendant que le pH de l'éluant augmente ; on dose ensuite, par la ninhydrine, les A.A. dans chaque fraction : ces dosages sont faits par spectrophotométrie (autrement dit, par mesure de l'absorption d'une lumière de longueur d'onde donnée par le complexe à la ninhydrine ; pour la plupart des A.A, λ = 570 mμ sauf pour la proline, où λ = 440 mμ). Les fractions doivent être d'autant plus nombreuses que le mélange est plus complexe. On aboutit alors à une série de résultats permettant d'obtenir une courbe : à chacun des pics de celle-ci correspond la *vague* de passage d'un A.A.

Ces opérations sont relativement longues. Dans la pratique l'expérimentateur est amené à comparer de nombreux extraits, et l'on a dû mettre au point un système analyseur automatique. Cette innovation est capitale car elle évite au chercheur de se consacrer essentiellement à la technique.

La *méthode électrophorétique.* Les acides aminés sont entraînés sur du papier ou sur du gel d'amidon ; en effet, il faut freiner leur migration, qui serait trop rapide en milieu purement aqueux : les A.A. sont de petites molécules très mobiles dans le champ électrique. On opère à pH4, par exemple, afin d'avoir une large répartition des substances, les unes allant vers l'anode et certaines vers la cathode.

L'*utilisation des isotopes* permet d'améliorer l'étude d'un chromatogramme, par exemple. On ajoute à la solution que l'on doit étudier une dose connue de l'A.A. que l'on veut y doser ; cet acide aminé est marqué par un isotope radioactif. Ensuite, par chromatographie, on extrait la totalité de l'A.A. et on mesure sa radioactivité spécifique ; elle est, si l'on peut dire, diluée ; on peut alors calculer la quantité d'A.A. non marqués.

Enfin, on peut *doser* un acide aminé par une technique purement biologique. On utilise des souches de *Bactéries auxotrophes ;* ce sont des mutants qui, à partir d'un milieu de culture simple, sont incapables de synthétiser l'un des A.A. nécessaires à leur croissance, alors qu'ils synthétisent les autres. Lorsqu'on ajoute l'A.A. en question au milieu contenant ces germes, la croissance se produit et permet la formation de colonies. Or la vitesse de croissance de telles colonies dépend directement de la quantité d'A.A. introduite dans le milieu. Si on mesure le diamètre des colonies témoins ayant reçu des quantités connues de l'A.A., on peut en déduire très simplement sa concentration dans la solution expérimentale que l'on étudie parallèlement.

Les peptides

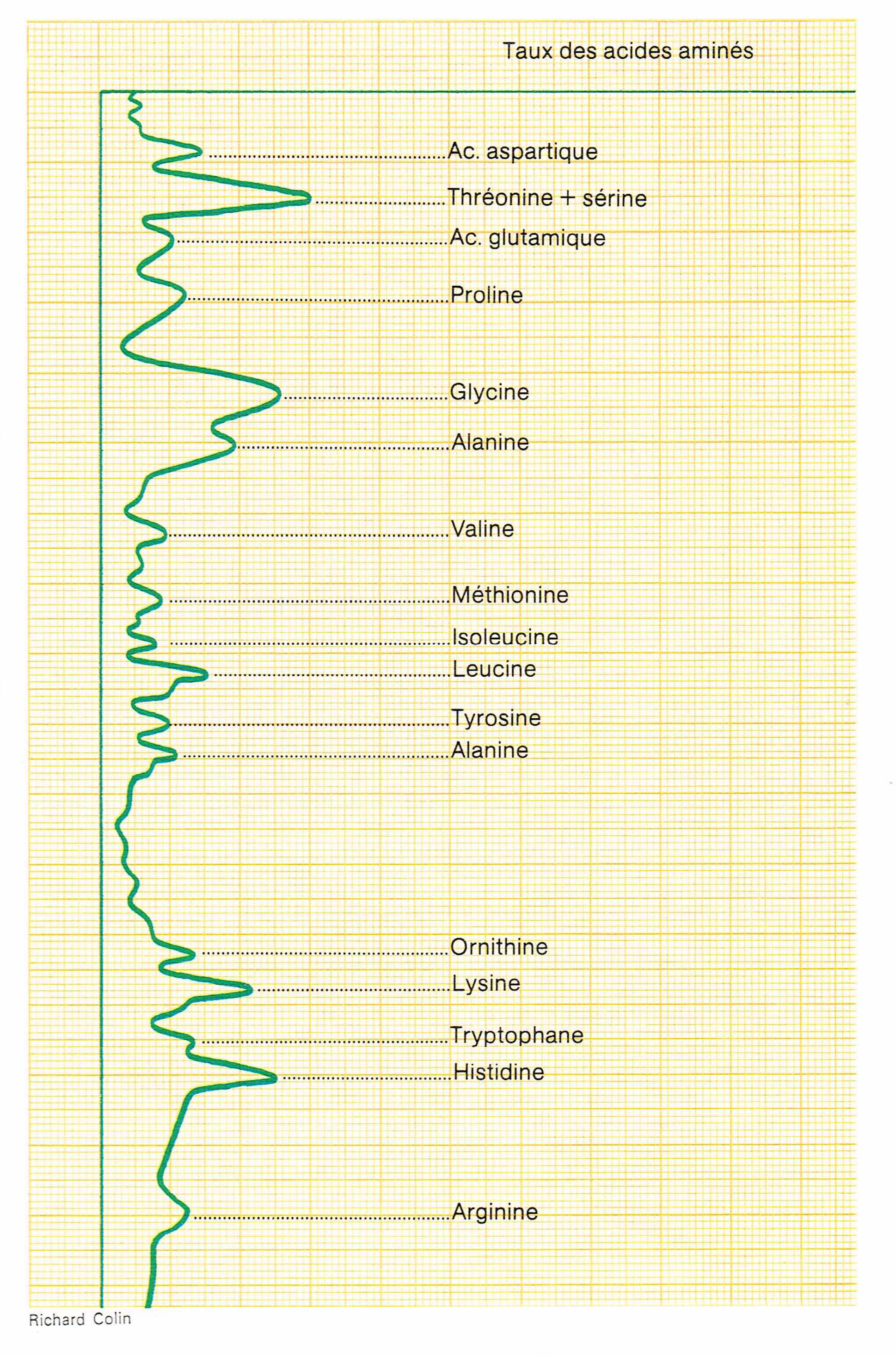
Les *peptides* sont constitués par la liaison de deux ou de plusieurs acides aminés.

Mode de liaison des acides aminés : la liaison peptidique

On peut schématiser ainsi la liaison peptidique entre deux acides aminés :

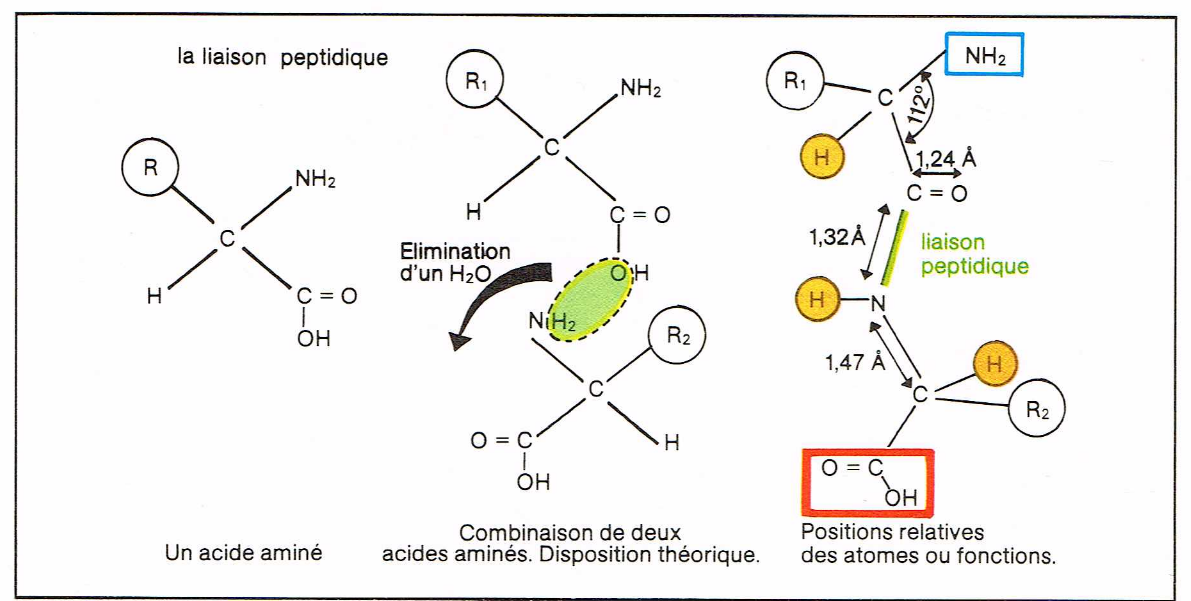
$$R_1 - \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} - COOH + R_2 - \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} - COOH \rightarrow H_2O + \begin{array}{l} R_1 - CH - COOH \\ \qquad\quad | \\ \qquad\quad NH \\ \qquad\quad | \\ R_2 - \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} - C = O \end{array}$$

▼ ***Résultat de la séparation des acides aminés de l'hémolymphe d'une chenille femelle de Lépidoptère* (Plodia interpunctella), *par chromatographie sur une résine échangeuse d'ions (d'après Morère).***



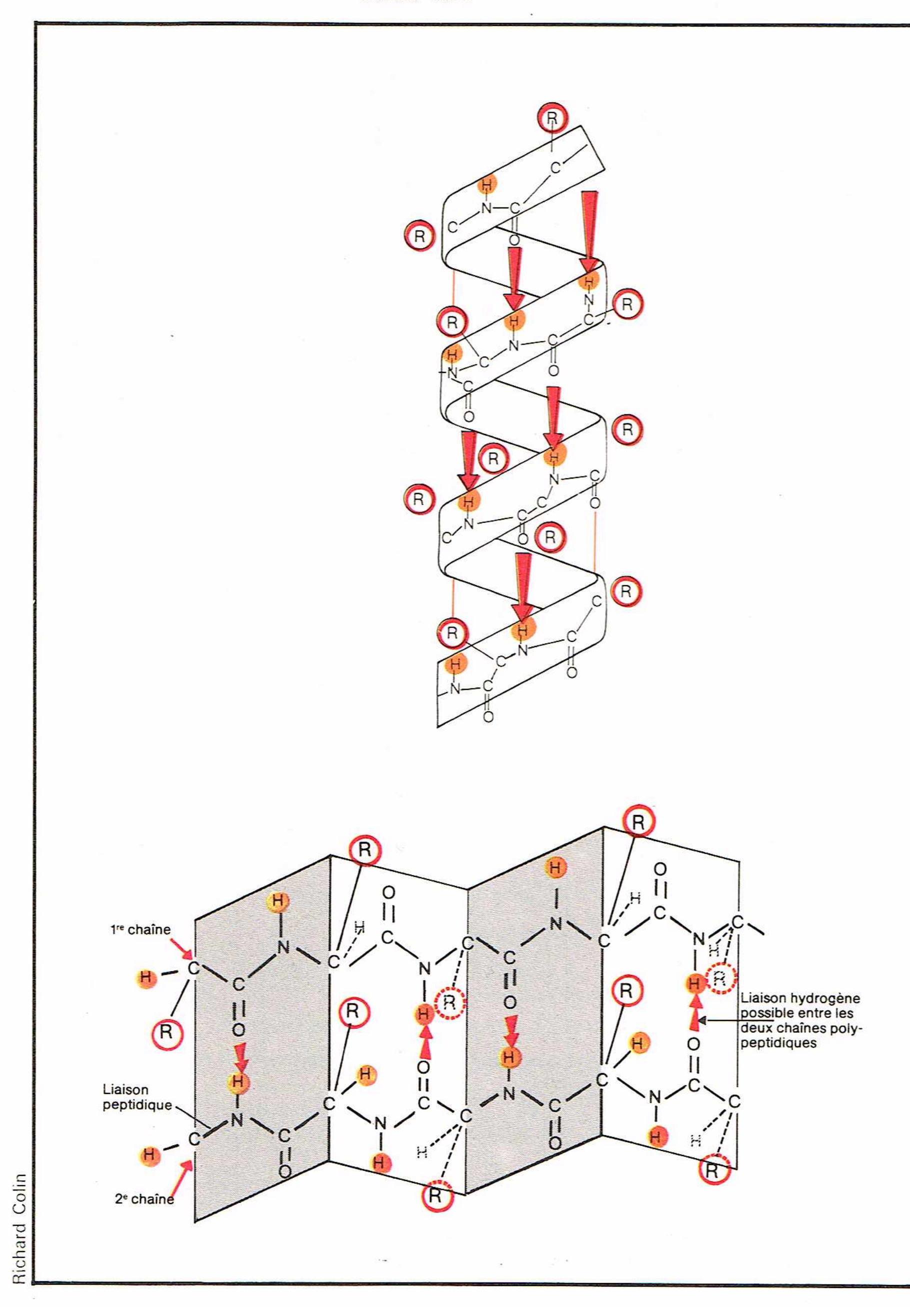
Richard Colin

▶ *Représentation schématique du mode de liaison particulier aux acides aminés* **la liaison peptidique.** *Les groupements R, caractéristiques de chaque acide, sont disposés de façon alternée; les distances interatomiques sont fixes.*



Richard Colin

▼ *Deux représentations de la structure secondaire de certains polypeptides : en haut, forme en hélice (d'après Pauling); en bas, forme en accordéon (d'après Durand); les résidus R de chaque acide aminé sont en dehors de la spire ou de la chaîne; la cohésion de la spire ou des chaînes de l'accordéon est assurée par des liaisons hydrogène.*



Richard Colin

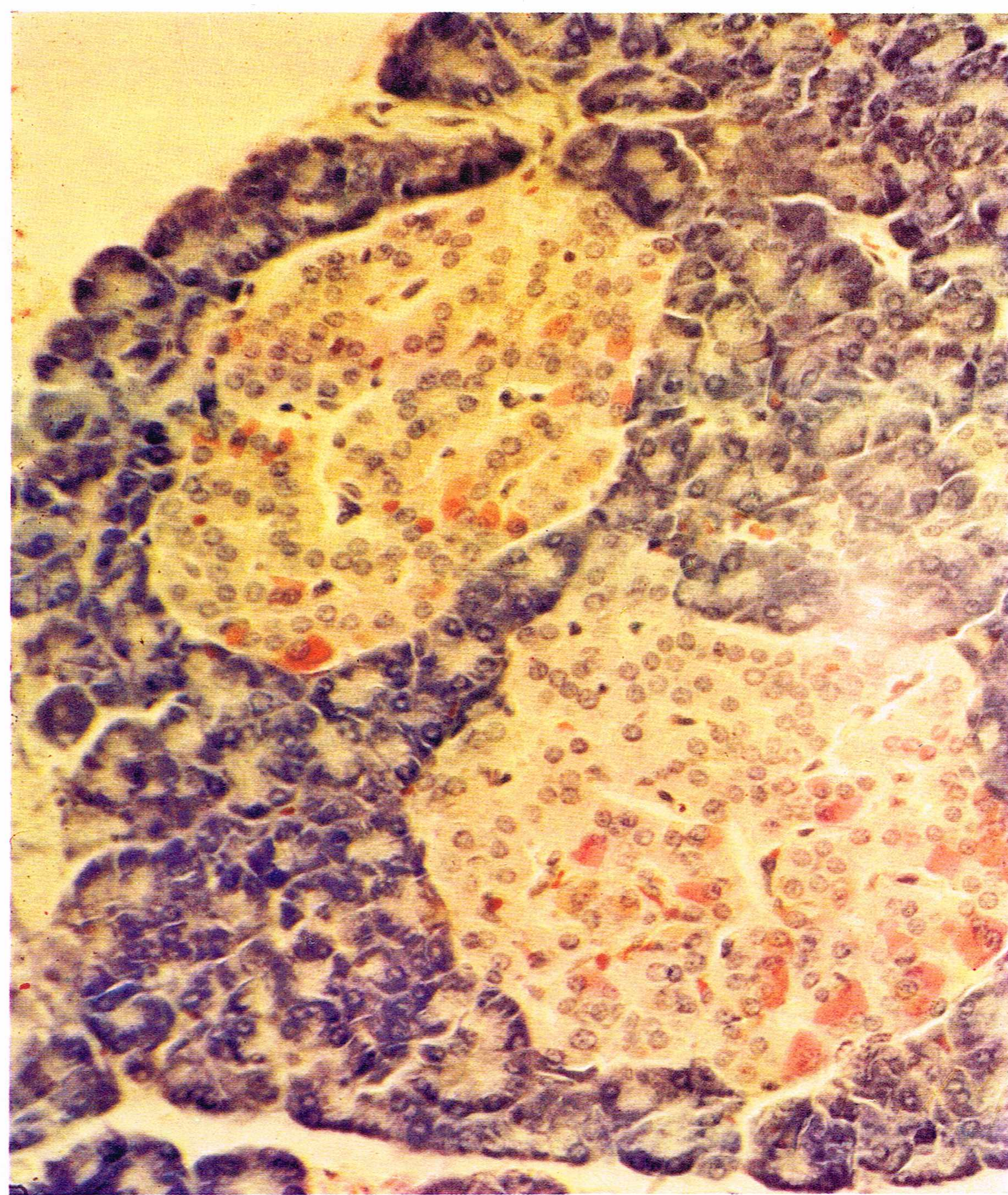
Cette liaison peptidique peut s'établir entre de nombreux acides aminés. On parle dans ce cas de *molécules polypeptidiques;* ces polypeptides ne sont pas encore des protéines, car leur poids moléculaire est inférieur à 6 000, et, d'autre part, il n'y a pas, entre les A.A., d'autres liaisons covalentes que les liaisons peptidiques; autrement dit, il n'y a *pas de ponts* entre différents points d'une chaîne polypeptidique plus ou moins pelotonnée.

En 1951, Pauling et Corey ont pu préciser la topographie de molécules de peptides en utilisant une technique de *diffraction des rayons X.* Ils avaient constaté que des molécules polypeptidiques montrent un retour périodique des structures analogues : les rayons X ont permis d'une part de localiser les atomes d'une chaîne et, d'autre part, de déterminer la *périodicité* des liaisons peptidiques. Cette périodicité peut être calculée précisément.

En effet, ces chercheurs avaient commencé par étudier des cristaux d'acides aminés et de peptides *simples;* ils constatèrent que les résidus R des acides aminés sont en dehors du plan des atomes de la liaison peptidique, et ils purent mesurer les distances interatomiques de cette liaison. Ils en ont déduit la *longueur théorique* d'une *chaîne* de polypeptide fibreux synthétique et ont comparé cette valeur avec la valeur *mesurée* par diffraction : cette dernière longueur représentait seulement la *moitié* de la longueur théorique. En conséquence, ils en déduisirent que la chaîne devait être *pliée en accordéon* ou bien *spiralée :* ainsi prenait corps la notion de *structure secondaire;* celle-ci est rendue particulièrement stable par l'existence de *liaisons hydrogène* qui se font entre les groupements C = O et N — H au sein de la même chaîne spiralée, ou de deux chaînes voisines pliées en accordéon, H jouant le rôle d'accepteur d'électrons vis-à-vis de O.

Pour des polypeptides formés d'acides simples (monoacides, monoaminés), les propriétés physico-chimiques dépendent particulièrement des deux radicaux ionisables *terminaux.* Ce n'est pas le cas des peptides comportant des acides aminés *diacides* ou *diaminés :* leur présence implique l'existence d'autres points ionisables répartis le long de la chaîne.

De même qu'on a défini un point *iso-ionique* pour les acides aminés, on peut en définir un pour les polypeptides. Ce pH se définit pour des molécules dans l'*eau pure.* Mais dans un milieu biologique les peptides sont dissous dans un environnement comportant des *électrolytes.* Ceux-ci forment une *couche ionisée* autour des particules de polypeptides; des ions Cl^-, par exemple, se disposent au contact de radicaux NH_3^+ (surnuméraires) et neutralisent la particule cationique. On distingue donc le pH du *point iso-ionique* et celui du *point isoélectrique,* ou pH correspondant à une molécule liée à des électrolytes. On détermine le point isoélectrique en recherchant à quel pH une molécule peptidique, dissoute dans un liquide biologique, ne migre pas dans un champ électrique.



F. Treilhou

Structure primaire de l'insuline

Chaîne A	Chaîne B
NH_2	NH_2
GLY	PHE
ILEU	VAL
VAL	ASP
GLU	GLU
GLU	HIS
CYS	LEU
CYS	CYS
ALA	GLY
SER	SER
VAL	HIS
CYS	LEU
SER	VAL
LEU	GLU
TYR	ALA
GLU	LEU
LEU	TYR
GLU	LEU
ASP	VAL
TYR	CYS
CYS	GLY
ASP	GLU
COOH	ARG
	GLY
	PHE
	PHE
	TYR
	THR
	PRO
	LYS
	ALA
	COOH

Richard Colin

▲ *A gauche,* **cellules à insuline** *des* **îlots de Langerhans** *du pancréas de souris; cellules claires sur la préparation (fuchsine-paraldéhyde et coloration topographique). A droite,* **structure primaire** *de l'insuline; en vert, sur la chaîne B, la séquence indispensable au fonctionnement de l'hormone.*

Quelques peptides et leurs fonctions

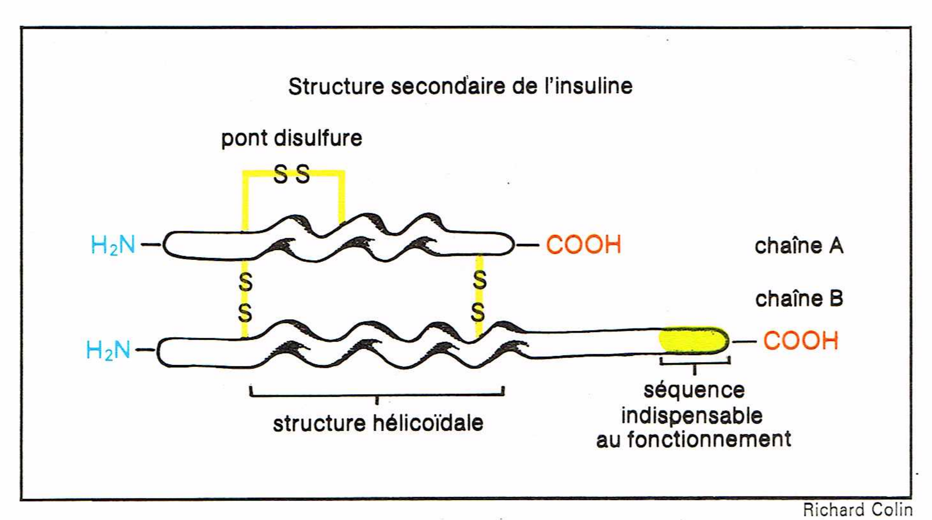
Il s'agit souvent de molécules à rôle hormonal; celles-ci sont tout aussi importantes que les hormones stéroïdes lipidiques.

Les hormones pancréatiques des Vertébrés

L'**insuline**, une des hormones pancréatiques, est maintenant connue avec beaucoup de précision; cette substance, constituée par l'accolement de deux chaînes de polypeptides dont le poids moléculaire est un peu inférieur à 6 000, se place à la limite des protéines.

Le pancréas est une glande abdominale constituée de cellules diverses : on y trouve des massifs de cellules sécrétrices *exocrines* fabriquant un suc digestif et, d'autre part, des massifs de cellules *endocrines* dont le produit de sécrétion est capté par le sang, et qui constituent les *îlots de Langerhans*, bien visibles, par exemple, chez l'homme ou la souris. L'insuline, sécrétée par certaines des cellules de ces îlots, joue un rôle vital sur le métabolisme glucidique.

Nature de l'insuline. A la fin de la dernière guerre, l'insuline était un des seuls protides dont on connaissait (dans le désordre) la composition en acides aminés; on pouvait aussi l'obtenir pure. Sanger entreprit l'étude de la disposition précise de ces acides aminés. Un tel travail pouvait paraître utopique, étant donné leur nombre élevé dans la molécule. Ce chercheur mit au point une technique de détermination de l'*acide aminé terminal*. Dans un premier temps, il fixait sur le NH_2 terminal une molécule de *dinitrofluorobenzène* (DNFB), ce qui se traduisait par une réaction colorée. Dans un second temps, il *fragmentait* la chaîne polypeptidique par hydrolyse acide; il lui était alors possible, par chromatographie, de déterminer l'acide aminé terminal préalablement coloré en jaune par le DNFB. En fragmentant partiellement les chaînes par hydrolyse ménagée ou par l'action d'enzymes qui entraînent la rupture de certaines liaisons peptidiques, Sanger put déterminer pour chaque fragment la nature de l'acide aminé terminal. En poursuivant patiemment les fragmentations, puis les analyses chromatographiques, et en



Richard Colin

① initialement : taux sanguin de glucose excessif

② sécrétion pancréatique d'insuline

③' cellule hépatique: formation de glycogène stable

③ lipides non métabolisés

distribution de l'insuline par les capillaires artériels :
– absorption du glucose et formation de glycogène
– réduction du métabolisme lipidique

Richard Colin

▲ *A gauche,* **structure secondaire** *de l'insuline. A droite,* **principe de fonctionnement** *de l'insuline : le résultat est une diminution de l'hyperglycémie, un retour au taux normal (la largeur des flèches rouges est proportionnelle au taux de glucose véhiculé).*

regroupant tous ses résultats, Sanger parvint à établir la *séquence* des acides aminés constituant chacune des deux chaînes de l'insuline. Ce travail remarquable lui prit dix ans, avec l'aide de Tuppy et Thomson. Il ouvrit aux biochimistes un champ d'expérimentation extraordinairement vaste et propre à susciter l'enthousiasme. En 1958, Sanger fut lauréat du prix Nobel de chimie.

Voici la réaction clé, celle qui permet la détermination de l'acide aminé terminal.

$$(NO_2)_2C_6H_3{-}F + R{-}CH(NH_2){-}COOH \rightarrow FH + (NO_2)_2C_6H_3{-}NH{-}CH(R){-}COOH$$

dinitrophényl-amino-acide (DNP-A.A.)

Une autre réaction, celle d'Edman, apporte maintenant une amélioration particulièrement appréciable. Si le principe de fixation d'une substance sur le NH_2 terminal est encore le même, cette fixation entraîne la *libération* de l'acide aminé terminal; bien des manipulations se trouvent ainsi évitées. Le réactif est le *phénylisothiocyanate.* Après chaque fixation et libération automatique de l'acide aminé terminal, le reste polypeptidique est repris, retraité, etc. On obtient d'emblée la séquence des acides aminés, sans qu'il soit nécessaire de regrouper les résultats. Il existe à présent des analyseurs de séquence entièrement automatisés.

Ces méthodes d'analyse des séquences d'acides aminés donnent la *structure primaire* précise de la chaîne que l'on étudie. L'utilisation des rayons X a permis de déterminer les structures d'ordre supérieur et de bien concevoir la forme de la molécule.

La fonction de l'insuline. L'insuline *régularise la glycémie.* Quand le taux de glucose sanguin tend à augmenter (dans les cas d'excès d'aliments sucrés par exemple), l'insuline accroît la perméabilité membranaire pour le glucose et favorise le stockage de celui-ci dans les cellules; parallèlement, cette hormone augmente le transport membranaire des groupes phosphates, qui se lient ensuite au glucose dans la cellule. On dit que l'hormone est *hypoglycémiante,* puisqu'elle permet la capture du glucose. On estime qu'il y a une intense absorption du glucose par les cellules, mais aussi une importante rétention de ce glucide au niveau du foie. De plus, l'insuline limite l'utilisation métabolique des lipides et des protides et empêche donc leur « fonte », leur interconversion en glucides; ce rôle serait essentiel (Kayser).

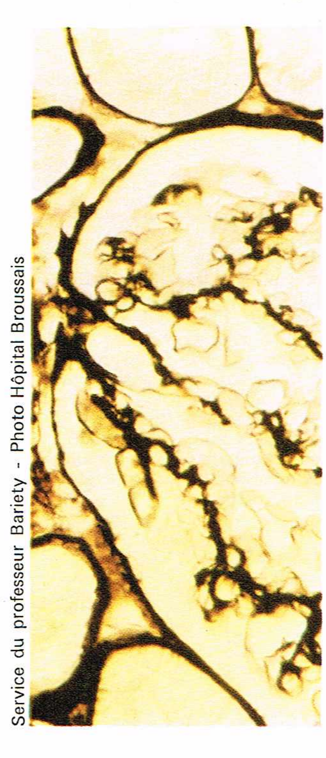
L'insuline possède aussi une action *oligo-urique :* lorsque le taux de glucose augmente dans le sang, l'insuline freine l'élimination d'eau. Comme on le voit, son activité est complexe.

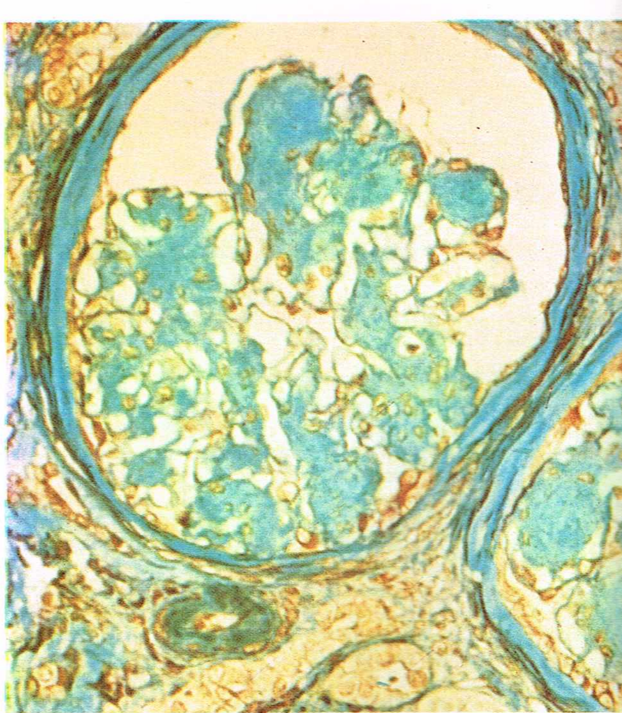
La sécrétion de l'hormone est déterminée par l'influence directe du taux de glucose sur les cellules des îlots pancréatiques. Divers mécanismes biochimiques peuvent contrôler cette sécrétion : si elle est excessive ou si l'on injecte de l'insuline à un animal normal, cet excès est inactivé par rupture des ponts disulfures qui relient les deux chaînes, par formation d'anticorps et par inhibition enzymatique au niveau du foie. Une sécrétion insuffisante de l'insuline entraîne une *hyperglycémie* et des troubles graves, qui constituent le *diabète.*

Le déterminisme moléculaire du fonctionnement de l'hormone. Celui-ci dépend de certains points particuliers de la molécule : seule la portion terminale carboxylée de la chaîne B est une séquence indispensable au fonctionnement; elle existe chez différentes espèces animales. Par contre, une partie de la chaîne A est variable. Il semble donc que les insulines trouvent leur origine paléontologique chez un ancêtre commun et que, à partir d'un archétype, diverses mutations se soient produites dans chaque rameau de l'arbre évolutif.

Portant sur la partie terminale indispensable de la chaîne B, ces mutations auraient été létales; mais, en se produisant ailleurs sur la chaîne, elles n'ont pas empêché la survie des animaux (Durand). On peut toutefois envisager qu'une partie de ces mutations non létales aient eu des conséquences défavorables pour la survie de l'espèce; dans ce cas, elles auraient donc été létales à long terme; par contre, on peut penser que certaines d'entre elles ont pu favoriser le métabolisme de telle ou telle espèce dans un milieu donné; la variabilité interspécifique de la chaîne A serait alors la conséquence de ces mutations favorables.

▼▶ *A gauche,* **glomérule humain normal** *(coloration par un sel d'Ag); l'argent imprègne en particulier la membrane basale et la périphérie de la capsule de Bowman. A droite,* **glomérulopathie diabétique** *entraînant, progressivement, la quasi-inactivité de filtration des glomérules (aspect en « pain à cacheter »).*


Service du professeur Bariety - Photo Hôpital Broussais


Service du professeur Bariety - Hôpital Broussais

Le **glucagon** est une hormone sécrétée dans le pancréas par une partie des cellules des îlots de Langerhans. Cette hormone est antagoniste de l'insuline; son poids moléculaire est de 3 500, et sa chaîne ne comporte que 29 acides aminés. Cette hormone, découverte en 1923 par Kimball et Murlin, est hyperglycémiante; elle provoque un accroissement de la glycogénolyse hépatique. L'origine cellulaire précise du glucagon n'a pas toujours été démontrée chez les Vertébrés, et son mode d'action n'est pas simple.

Les hormones peptidiques de l'hypophyse

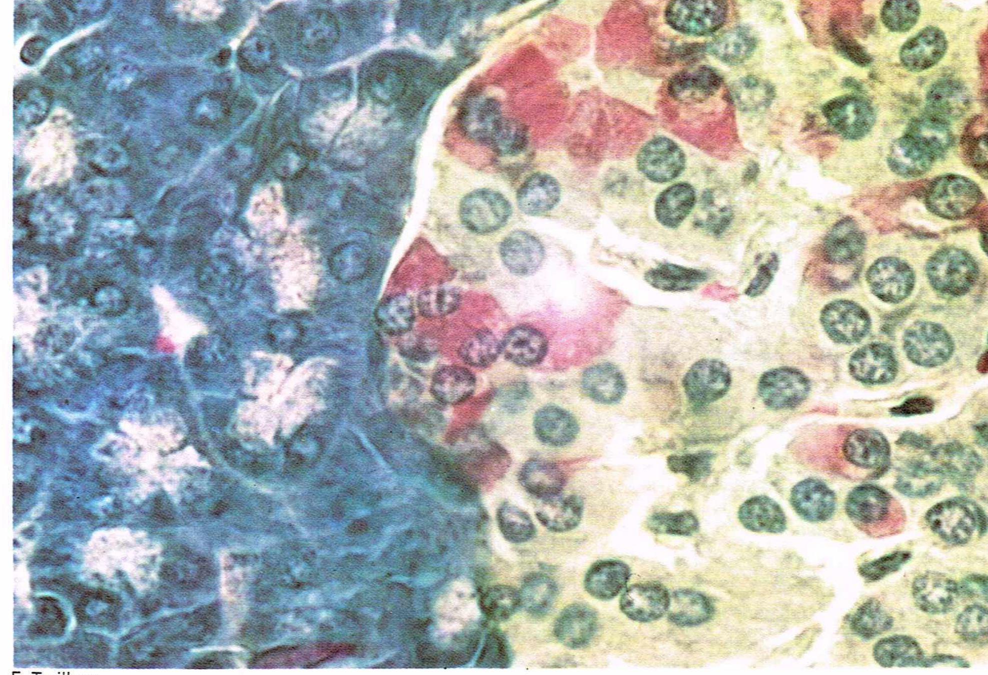
L'hypophyse, glande complexe appendue au plancher du cerveau de tous les Vertébrés, sécrète un assez grand nombre d'hormones, qui, souvent, *contrôlent* le fonctionnement des autres glandes endocrines. Son fonctionnement est lui-même *contrôlé* par le cerveau.

Hormones peptidiques du lobe postérieur de l'hypophyse

— La *vasopressine* contrôle les échanges hydriques au niveau membranaire. Elle est synthétisée dans la partie proprement nerveuse de l'hypophyse et ne comporte que 9 acides aminés.

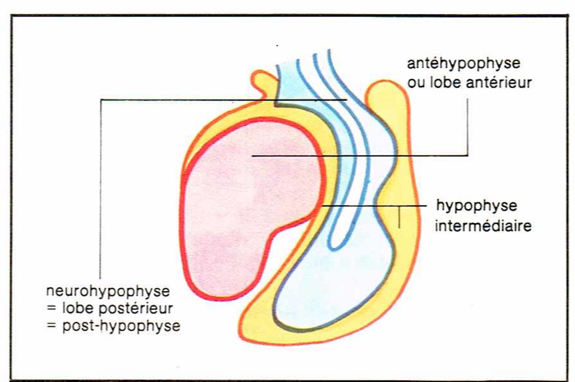
Cette hormone, *antidiurétique* (ADH), agit directement sur le rein des Vertébrés. De plus, elle joue vraisemblablement un rôle dans l'excrétion urinaire active de Na^+ (Morel, 1955) et de K^+ (Sartorius et Roberts, 1949); son action compenserait donc celle de l'aldostérone, hormone stéroïde qui favorise la réabsorption de ces ions. D'autre part, la vasopressine permet une augmentation de l'absorption d'eau par la paroi intestinale. Des expériences effectuées sur les Amphibiens et les Reptiles montrent que son rôle est d'empêcher la déshydratation cellulaire dans tous les tissus.

La sécrétion d'ADH est en rapport direct avec la pression osmotique du plasma sanguin; cette pression est détectée par des récepteurs nerveux situés dans la paroi de l'artère carotide et reliés au plancher du cerveau (Verney). Si la pression osmotique est trop forte, l'hormone est sécrétée, ce qui entraîne une *réabsorption d'eau* à partir de l'urine en formation dans les tubes excréteurs rénaux; parallèlement, il y a une intense absorption de l'eau au niveau de l'intestin. Le mécanisme régulateur est très

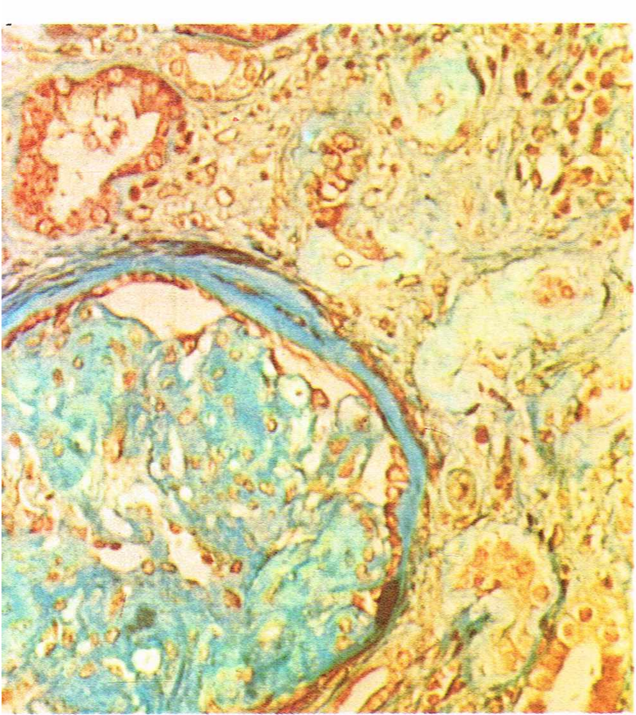

F. Treilhou

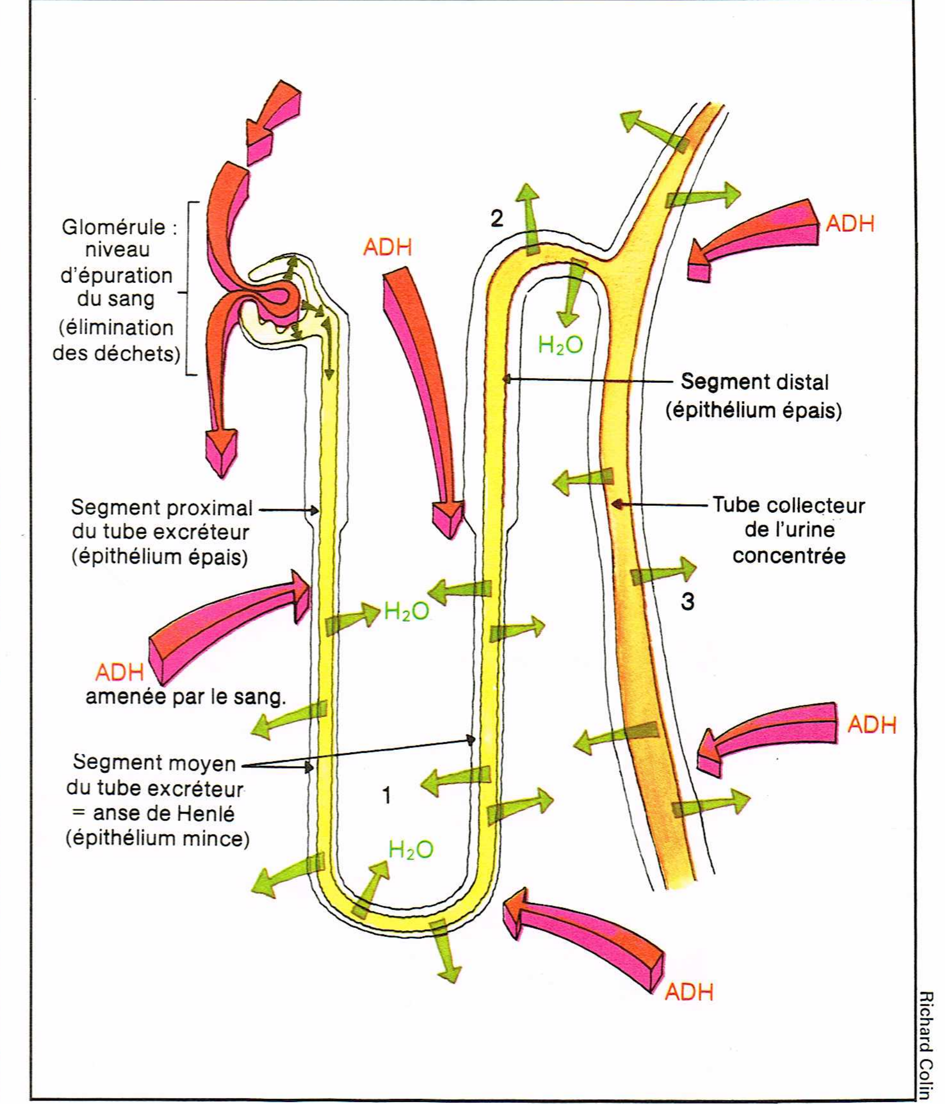
▲ Cellules à glucagon (ici, en rose) des îlots de Langerhans (fuchsine-paraldéhyde et coloration topographique).

◄▼ A gauche, localisation de l'hypophyse intermédiaire chez le chat. A droite, sites d'action de l'ADH sur un élément excréteur rénal (néphron).



Richard Colin





Richard Colin

clair, et l'on voit que le *contrôle nerveux* cérébral est essentiel.

Le *diabète insipide* est une maladie qui dépend d'une sécrétion de vasopressine anormalement basse. Il se manifeste par une excrétion urinaire excessive, entraînant souvent une déshydratation catastrophique; en conséquence, le taux de glucose augmente dans le sang trop concentré, d'où le nom de diabète. Dès 1913, Camus et Roussy ont provoqué expérimentalement le diabète insipide, chez des animaux, en lésant leur plancher cérébral (hypothalamus).

— L'*ocytocine* déclenche les *contractions utérines* et l'*excrétion lactée*. Cette hormone est aussi un peptide à 9 acides aminés, dont 2 seulement diffèrent de ceux de la vasopressine.

L'action de l'ocytocine est complexe : fondamentalement, elle provoque la contraction de fibres musculaires; les organes cibles sont essentiellement l'utérus et la glande mammaire. Au niveau mammaire, la succion du mamelon lors de la tétée stimule, par voie nerveuse, la sécrétion neurohypophysaire d'ocytocine et de vasopressine; l'excrétion aqueuse urinaire est par conséquent réduite par la vasopressine, cela limite la perte d'eau impliquée par la lactation suivie de l'expulsion du lait consécutive à l'action de l'ocytocine (Montastruc). L'ocytocine ne favorise pas la fabrication du lait, mais elle produit la contraction des gaines musculaires des canaux galactophores, donc l'éjection du lait. Le nourrisson qui tète ne pompe pas réellement le lait de sa mère, mais excite le mamelon, provoquant ainsi l'excrétion du lait qu'il se contente ensuite d'avaler; de même, le fait de traire une vache à la main n'implique pas un pompage.

La vasopressine et l'ocytocine, chimiquement voisines, sont étroitement associées sur le plan physiologique, et, selon Stutinsky (1951), leur synthèse est la conséquence d'un *mécanisme neuro-sécréteur* qui prend son origine dans le plancher cérébral et qui, par voie nerveuse, entraîne un précurseur vers la posthypophyse (migration des hormones associées à une protéine, la neurophysine); la question sera discutée en étudiant le système nerveux.

Hormones peptidiques du lobe antérieur de l'hypophyse ou lobe glandulaire

— L'*hormone adrénocorticotrope (ACTH)* ou *corticostimuline*. Comme son nom l'indique, cette hormone agit sur le cortex de la glande surrénale et contrôle la formation du cortisol. L'ACTH est un polypeptide constitué par une chaîne de 39 acides aminés. Comme pour l'insuline, une fraction de cette chaîne est indispensable pour l'activité biologique (elle est constante), et la séquence des autres acides aminés varie suivant les espèces de Mammifères. La sécrétion d'ACTH est réglée par un centre cérébral du plancher hypothalamique. Il se formerait, à ce niveau, un précurseur de l'hormone, capable de migrer jusqu'à l'hypophyse.

— L'*hormone de stimulation mélanocytaire (MSH)*. Il y a en fait plusieurs hormones de ce type. Elles provoquent l'expansion des « pseudopodes » des cellules pigmentées de la peau (les *mélanocytes*), ce qui entraîne un assombrissement de celle-ci. On a longtemps cru que la MSH et l'ACTH ne constituaient qu'une seule hormone; elles sont en fait mélanisantes chez les Poissons et les Amphibiens. Il a été prouvé récemment que leur constitution chimique est seulement voisine; la forme α de la MSH comporte 13 acides aminés, qui sont identiques à ceux que l'on trouve dans le groupement actif de l'ACTH. Il existe une différence cependant : l'inversion du NH_2 et du CO_2H terminaux. Le nombre d'acides aminés de la MSH α varie suivant les espèces. Quant à la forme β elle comporte 9 acides aminés identiques à ceux de la séquence active de l'ACTH. De telles ressemblances impliquent l'existence vraisemblable d'un précurseur commun. Et pourtant, il faut préciser que le territoire de formation de ces deux types d'hormones n'est pas le même : l'ACTH est proprement antéhypophysaire, alors que les MSH sont synthétisées par un groupe de cellules formant coin entre la post- et l'antéhypophyse, au niveau de l'*hypophyse intermédiaire;* il est vrai que l'origine embryologique de ces deux types de cellules est la même.

Le rôle de l'hypophyse intermédiaire dans la production de la MSH est mis en évidence par l'expérience suivante : quand on la détruit chez de jeunes Amphibiens, on obtient des adultes albinos; si la glande est détruite par un parasite, le résultat est le même. Remarquons cependant que chez certaines espèces, qui ne possèdent pas ces cellules intermédiaires, les MSH sont produites par le lobe antérieur.

On décrit classiquement une maladie correspondant à l'hypersécrétion de MSH : il s'agit de la *maladie bronzée d'Addison*. Elle est la conséquence d'une insuffisance surrénalienne qui entraîne la réduction du taux des hormones corticostéroïdes (cortisol, etc.) et secondairement l'hypertrophie pathologique de l'hypophyse, donc l'hypersécrétion de MSH. La peau de l'addisonien devient très pigmentée. L'insuffisance surrénalienne induit donc une *défreination antéhypophysaire* et l'hypersécrétion de MSH « qui survient à l'ombre de celle de l'ACTH » (Kayser).

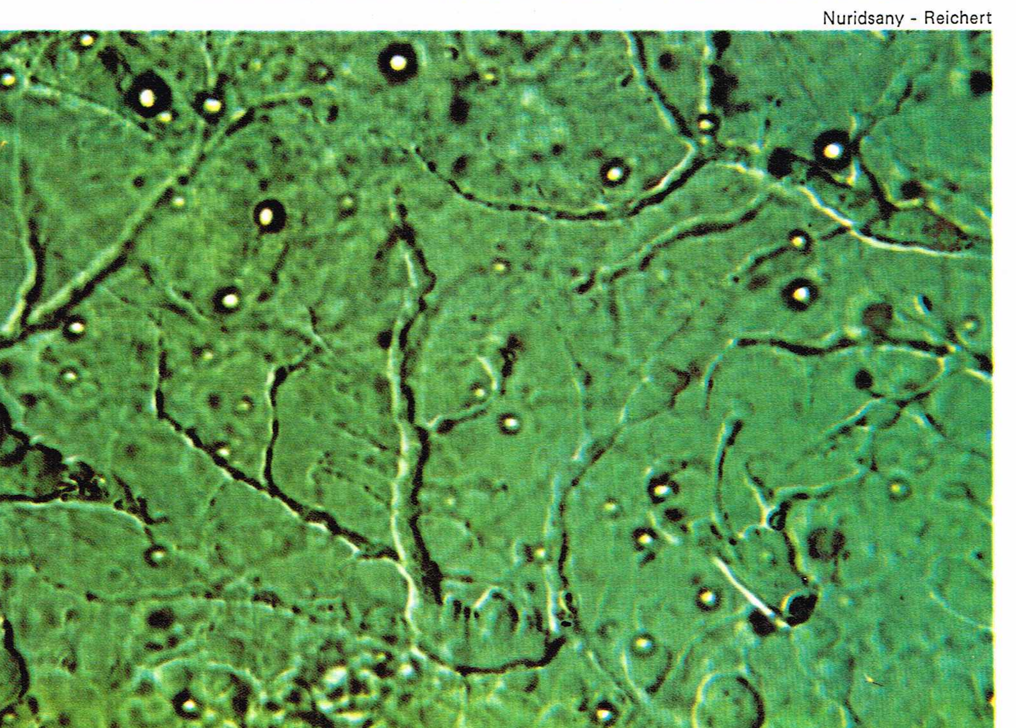
Chez le Mammifère normal, il y a équilibre entre les sécrétions de corticostéroïdes d'une part et celles de MSH — ACTH d'autre part.

Mode d'action de ces hormones polypeptidiques au niveau cellulaire

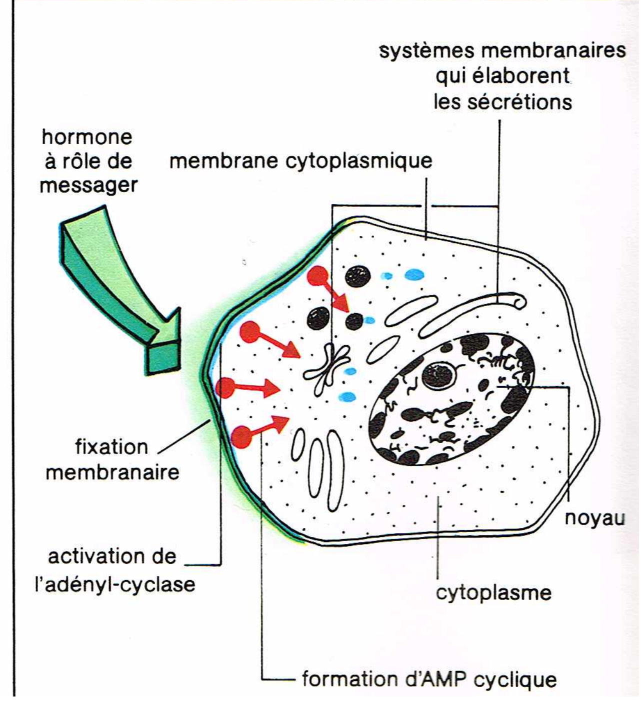
Il semble que ces hormones agissent, pour la plupart, suivant un mécanisme commun. En effet, transportées jusqu'aux cellules cibles, elles se fixent sur leur membrane et induisent la formation d'un composé dont l'importance est évidemment primordiale : il s'agit de l'*AMP 3'5' cyclique* (AMP = adénosine monophosphate, substance voisine de l'ATP); dans la membrane d'une cellule « choisie », l'hormone active une enzyme,

▼ ***A gauche,* mélanocytes *mis en évidence dans la queue d'un jeune triton (contraste interférentiel).* La MSH *provoque l'expansion des « pseudopodes » des* mélanocytes, *ce qui entraîne un assombrissement de la peau.* *A droite, mode d'action des* hormones peptidiques *sur la* cellule-cible.**

Nuridsany - Reichert



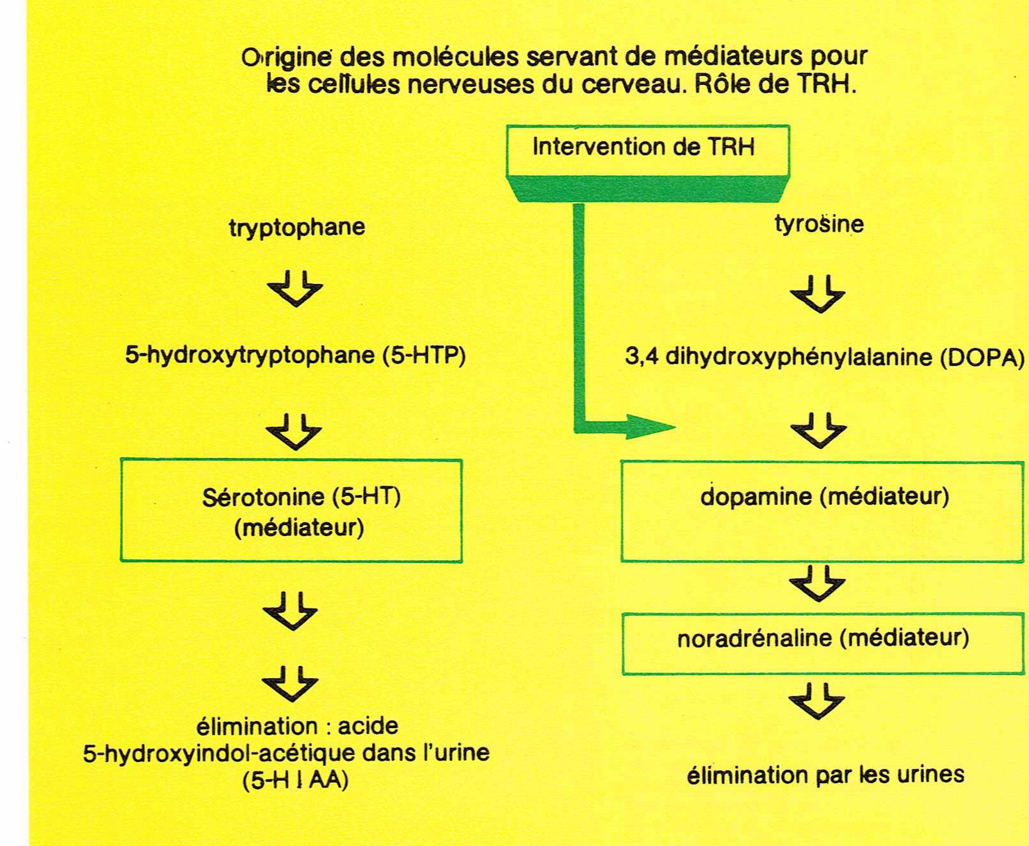
Richard Colin



l'*adénylcyclase,* qui permet la formation d'AMP cyclique. Cette substance a ensuite une action intracellulaire, qui varie avec le type de cellule. Krech a montré que, par elle-même, l'hormone n'a pas d'activité biochimique particulière, mais seulement une fonction de messager.

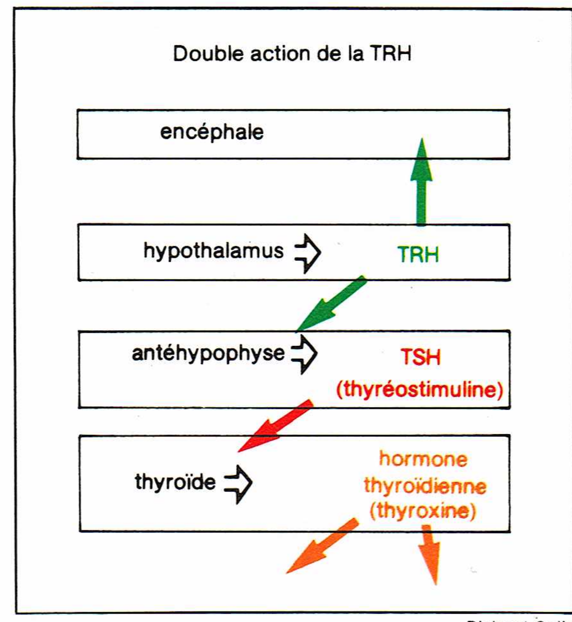
Une hormone peptidique de l'hypothalamus

Le cerveau synthétise des molécules peptidiques hormonales. Dans l'hypothalamus (partie ventrale du cerveau), il existe une hormone d'une grande importance pratique, la *TRH (thyrotropin releasing hormone),* responsable du bon fonctionnement de la *thyroïde.* Elle agit d'abord sur l'antéhypophyse, favorisant alors la formation d'une stimuline qui est ensuite directement active sur la thyroïde. D'autre part, cette TRH détermine le *comportement* de l'être humain; si l'individu n'en synthétise pas assez, il sombre dans un état dépressif qui n'est que trop fréquent. La TRH jouerait un rôle dans la formation de dopamine (amine biogène) à partir de tyrosine; or la dopamine est un médiateur chimique essentiel au niveau cérébral et le précurseur d'un autre médiateur, la noradrénaline. En thérapeutique on dispose d'un certain nombre de « médicaments » antidépressifs tels que le tryptophane qui permet la synthèse de sérotonine, amine biogène qui agit dans le cerveau *avec* les autres médiateurs; un traitement des malades par le tryptophane et la TRH permet d'améliorer considérablement le comportement des dépressifs graves (Prange et Wilson, 1972).



Richard Colin

▲ ***L'action conjuguée de la TRH (thyrotropin releasing hormone) et du tryptophane permet d'améliorer considérablement le comportement des dépressifs graves.***



Richard Colin

◀ ***La TRH est responsable du bon fonctionnement de la thyroïde; d'autre part, elle détermine le comportement de l'être humain.***

Peptides à rôle antibiotique

Les peptides antibiotiques sont produits par des micro-organismes ou des moisissures; très nombreux, ils ont des propriétés antibactériennes mais peuvent aussi intervenir spécifiquement au niveau de certaines étapes métaboliques communes à la plupart des êtres vivants; c'est cette dernière propriété qui empêche l'utilisation de beaucoup de produits antibiotiques (peptides ou autres) en thérapeutique.

Les gramicidines du *Bacillus brevis*

Ce sont des cyclo-peptides. On y trouve des acides aminés « extraordinaires », non incorporés dans les protéines naturelles, et des stéréo-isomères D, ce qui est anormal. Florkin et Schoffeniels ont mis en évidence le fait que ce caractère « aberrant » des acides aminés constituant ces peptides est commun à tous les peptides antibiotiques. C'est le cas, par exemple, des *tyrocidines* à D phénylalanine.

Les pénicillines

Leur importance est à la fois biologique et historique, puisqu'elles ont été à la base de toutes les recherches d'antibiotiques (Flemming). Divers Champignons Ascomycètes du genre *Penicillium* contiennent des dérivés d'un dipeptide, l'α-formyl-glycyl-D-pénicillamine. Dans le cas de la pénicilline G, le dipeptide est cyclisé.

$$\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CH_3 - C - SH \\ | \\ NH_2 - CH - COOH \end{array}$$

pénicillamine

$$\begin{array}{ccc} CHO & & CH_3 \\ | & & | \\ & & CH_3 - C - SH \\ & & | \\ NH_2 - CH - CO - NH - CH - COOH \end{array}$$

α-formyl-glycyl-D-pénicillamine

Les pénicillines freinent la croissance des Bactéries en se combinant avec les peptides de leur membrane.

Quelques polypeptides notables

Le **glutathion** est un tripeptide répandu chez les végétaux et les animaux. Il est constitué par la cystéine, l'acide glutamique et le glycocolle (CYS-GLU-GLY).

$$\begin{array}{l} \quad\;\; O \qquad\qquad\quad O \\ \quad\;\; \| \qquad\qquad\quad \| \\ H_2C - C - NH - CH - C - NH - CH_2 - COOH \\ \;\; | \qquad\qquad\quad | \\ \;\; CH_2 \qquad\quad\;\; CH_2 \\ \;\; | \qquad\qquad\quad | \\ H - C - NH_2 \qquad SH \\ \;\; | \\ \;\; COOH \end{array}$$

GLU — CYS — GLY

Le glutathion intervient dans le métabolisme de la phénylalanine et de la tyrosine; c'est un coenzyme important pour l'excrétion urinaire normale.

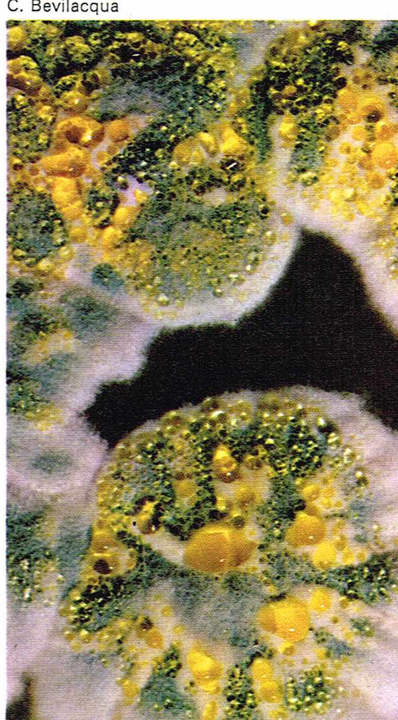
On trouve aussi la **carnosine** (β-alanyl-L-histidine) ainsi que l'**ansérine,** son dérivé méthylé, dans les muscles des Vertébrés.

L'**acide pantothénique** est d'une grande importance; c'est un des constituants du coenzyme A, substance indispensable pour la respiration cellulaire et pour la synthèse des glycérides. Beaucoup de Mammifères sont incapables de fabriquer cet acide; leur nourriture doit donc le fournir. On en trouve dans les végétaux. Remplissant une fonction clé dans le métabolisme, ce peptide permet la régénération des organes de certains animaux blessés (ce phénomène a été étudié chez les Amphibiens par Raunisch, en 1950). Étant précurseur d'un coenzyme, l'acide pantothénique peut être considéré comme une vitamine.

La **phalloïdine** est un polypeptide végétal présent dans les Champignons et responsable de la plupart des empoisonnements qui se produisent dans nos

▼ ***Les pénicillines (peptides antibiotiques) sont extraites de divers Champignons Ascomycètes tels que Penicillium notatum.***

C. Bevilacqua



▶ *L'empoisonnement phalloïdien est dû essentiellement à l'ingestion de l'amanite phalloïde* (**Amanita phalloides**), *espèce très commune dans les bois de chênes et de châtaigniers.*

▼ *A gauche, le schéma A figure le mode de fonctionnement normal de la transmission nerveuse; le schéma B illustre l'action de l'α-***bungarotoxine**, *toxine polypeptidique qui se lie irréversiblement à la protéine réceptrice membranaire (ici d'une portion d'électroplaque de l'organe électrique d'un Poisson [Poisson torpille ou gymnote]); la localisation de la toxine se fait après incorporation d'iode radioactif dans la molécule.*

régions; l'empoisonnement phalloïdien est dû essentiellement à l'ingestion de l'amanite phalloïde, espèce très commune, particulièrement dans les bois de chênes et de châtaigniers. Ce Champignon contient, en fait, plusieurs toxines : l'*amanitine*, un alcaloïde, l'*amanita-toxine*, substance phénolique provoquant une paralysie, et la *phalloïdine*, polypeptide responsable de l'hémolyse catastrophique qui apparaît vingt-quatre heures après l'ingestion d'un fragment de Champignon. Aucun antidote n'est jusqu'à présent vraiment efficace : on introduit dans l'organisme une dose importante de sel pour tenter de compenser les troubles de perméabilité des globules rouges mais le traitement n'est pas suffisant pour les cas les plus graves. L'actualité montre qu'il y a peut-être des méthodes mieux adaptées; l'avenir le dira vraisemblablement.

Le venin des serpents contient des polypeptides qui sont responsables de troubles nerveux et de paralysies pouvant entraîner la mort. Les toxines bloquent la transmission nerveuse en se fixant sur les récepteurs protéiques des médiateurs normaux du système nerveux. Ainsi, l'α-**bungarotoxine** du bongare de l'Inde et de Formose agit sur les récepteurs de l'acétylcholine (Lee et Chang, 1960), et cela quel que soit le type de Vertébré mordu. Tous les autres serpents venimeux, en particulier les cobras, ont des *neurotoxines* semblables; les Vipéridés possèdent, en outre, des **hémorragines** provoquant à la fois une hémolyse et une dégradation des parois capillaires.

Les sérums antivenimeux sont obtenus en affaiblissant d'abord la toxicité des venins, que l'on injecte ensuite à des chevaux; le sang de ces derniers fabrique des antitoxines. La détoxication initiale des venins est obtenue par chauffage (Phisalix et Bertrand, 1894) ou par oxydation (Calmette, 1896). On utilise depuis trente ans la méthode de Ramon qui permet l'obtention rapide des sérums antivenimeux (anavenins); dans ce cas, les polypeptides sont préalablement atténués par le formol. Les sérums fabriqués dans le monde entier sauvent des milliers de vies humaines. Dans la péninsule indienne, le naja et le bongare font, chaque année, des dizaines de milliers de victimes.

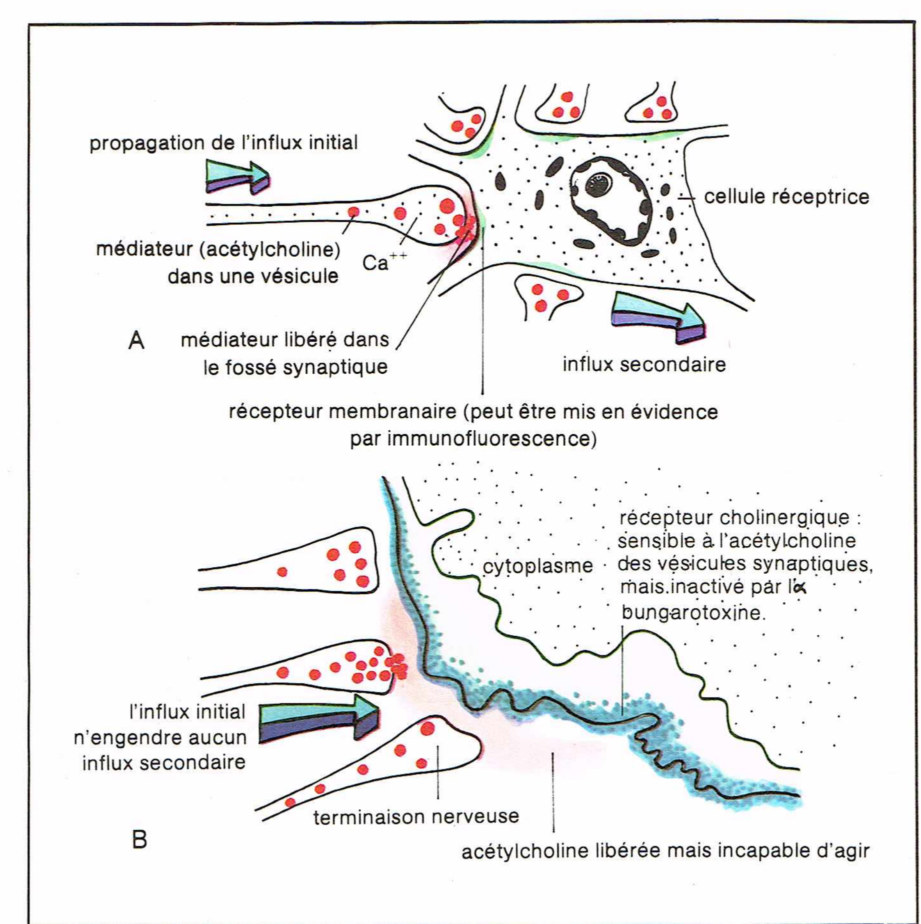

Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

Les protéines

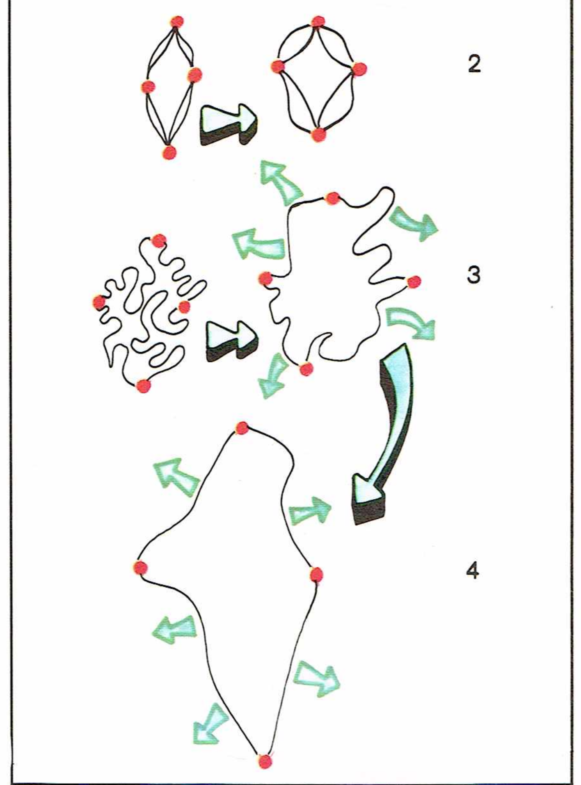
Les protéines sont plus lourdes et plus complexes que les polypeptides. Il en existe un nombre considérable dans le monde vivant; on en trouve même chez certains fossiles, mais sont-elles autochtones? Avant de donner des exemples de protéines actuelles, il est nécessaire de souligner leurs caractéristiques physico-chimiques.

Propriétés des solutions colloïdales protéiques

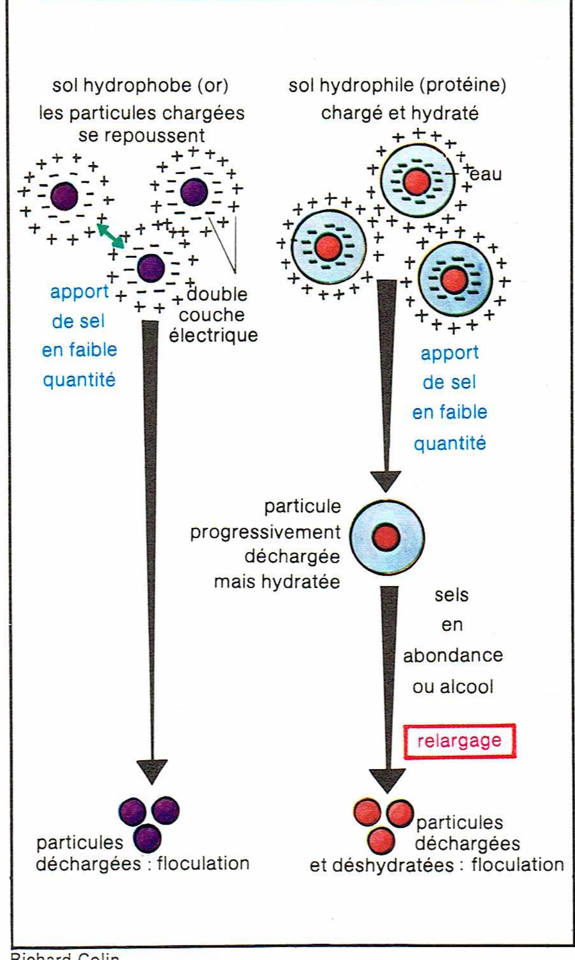
Si beaucoup de substances signalées dans les pages précédentes peuvent constituer des *solutions colloïdales* (polysaccharides, polypeptides), cette propriété est très remarquable chez les protéines. Lorsque la solution



Richard Colin



Richard Colin



Richard Colin

est fluide il s'agit d'un *sol*, et on parle de *gel* dans le cas d'une solution de consistance gélatineuse.

Les substances qui sont en solution colloïdale *diffusent mal* et *ne dialysent pas* à travers du papier parcheminé ou une membrane de cellophane; ces caractères sont valables pour les protéines mais aussi pour les polysaccharides. Les substances pouvant former des sols ont une pression osmotique très faible et, parallèlement, n'influent guère sur les points d'ébullition et de congélation de l'eau. Cette pression osmotique est encore appelée *pression oncotique*.

Les particules en solution colloïdale diffusent latéralement la lumière (c'est l'*effet Tyndall*), et cela même si la solution paraît claire à l'œil nu; l'ultramicroscope permet de distinguer les particules diffusantes (fond noir).

Dans un sol stable, on ne constate aucune décantation; par contre, les particules peuvent se déposer si le sol est soumis à une *ultracentrifugation;* la plupart des sols se dissocient dans une centrifugeuse pouvant atteindre 60 000 tours-mn et 300 000 g, c'est-à-dire quand la force centrifuge est 300 000 fois supérieure à la force du champ de gravitation. Les substances dispersées dans le sol peuvent s'y trouver à l'état *monomoléculaire* ou *polymoléculaire;* dans le dernier cas, on parle de *particules micellaires* (colloïdes d'association).

Degré d'instabilité des solutions colloïdales : la floculation

On distingue en chimie physique des colloïdes *hydrophobes* et des colloïdes *hydrophiles;* en biologie, nous n'aurons affaire qu'aux seconds.

Si les colloïdes hydrophobes (un sol d'or par exemple) *floculent* en présence de petites quantités d'électrolytes ajoutées à la solution, des quantités plus importantes sont nécessaires pour faire floculer un sol hydrophile (un sol de gélatine par exemple). Dans le premier cas, l'électrolyte décharge les particules polarisées du sol d'or, et, comme il n'y a plus alors de répulsion électrostatique entre ces particules initialement de même signe, elles s'agrègent et provoquent la floculation : l'électrolyte a éliminé la double couche électrique entourant les particules. Dans le cas d'un sol hydrophile, de protéine par exemple, la même quantité d'électrolyte ne produit aucun effet; si sa concentration est augmentée, la charge périphérique des particules disparaît, mais il reste encore de l'*eau d'hydratation polarisée* (eau liée) en contact étroit avec la protéine; si la concentration augmente encore, l'électrolyte déshydrate les particules : c'est le *phénomène de relargage* qui entraîne la floculation de la protéine.

En résumé, dans un sol hydrophile, les premiers milliéquivalents d'électrolyte éliminent d'abord la double couche électrique; puis, sa concentration croissant, l'électrolyte déshydrate les microparticules, ce qui provoque leur floculation.

Tous les électrolytes n'ont pas le même pouvoir de floculation. Kruyt et Van Overbeek donnent les séries suivantes, par ordre d'activité décroissante :
anions : sulfate SO_4^{--} > citrate $C_6O_7H_5^{---}$ > tartrate $C_4H_4O_6^{---}$ > acétate CH_3COO^- > chlorure Cl^- > bromure Br^- > nitrate NO_3^-;
cations : lithium Li^+ > sodium Na^+ > potassium K^+ > rubidium Rb^+ > cæsium Cs^+ et magnésium Mg^{++} > calcium Ca^{++} > baryum Ba^{++}.

Pour les premières étapes de l'analyse biochimique, on peut ainsi, grâce à divers ions, fractionner un mélange de macromolécules (floculations différentielles). Mais la floculation ne se produit pas pour tous les groupes de protéines, et elle dépend du pH de la solution colloïdale.

Viscosité des solutions colloïdales protéiques et mesures électrophorétiques

En solution, les protéines, plus ou moins nettement chargées suivant le pH, vont migrer dans un champ électrique, tout comme les peptides. L'*électrophorèse* des protéines est une technique très commune. On détermine également, pour les protéines, un *point isoélectrique*, pH pour lequel il n'y a pas de migration. La viscosité d'un sol de protéine augmente de part et d'autre du pHi, et la vitesse de *migration électrophorétique* varie donc suivant le pH de l'extrait étudié.

Réactions chimiques des protéines

Réaction xanthoprotéique

Cette réaction est très facile à observer; il suffit, par exemple, de déposer une goutte d'*acide nitrique,* chaud et dilué à 20-30 %, sur un morceau de mie de pain, pour voir, après quelques instants, la mie de pain virer au jaune : la farine contient des protéines qui sont responsables de cette réaction. De même, si l'on manipule sans précautions un flacon d'acide nitrique, celui-ci est toujours suffisant au niveau du bouchon pour jaunir les doigts...

Si l'on chauffe une solution protéique en présence d'acide dilué à 20 %, un précipité blanc se forme, devient rapidement jaune, puis orange. Le précipité blanc est seulement un précipité protéique dû à un excès d'acidification; ces particules deviennent jaunes si la protéine contient des acides aminés à noyau benzénique, ce qui est généralement le cas.

Réaction de Millon

Le réactif est complexe et contient des nitrates de mercure, de l'acide nitrique et de l'acide nitreux. Quelques gouttes dans une solution protéique provoquent d'abord le précipité blanc déjà évoqué; en chauffant avec précaution, le mélange devient rouge brique; cette réaction dépend de la présence de tyrosine dans la protéine.

Réaction du biuret

Lorsqu'on ajoute quelques gouttes d'une solution diluée de sulfate de cuivre au liquide contenant la protéine préalablement alcalinisée par la soude, il se forme aussitôt une coloration rouge virant au violet. Cette réaction, qui était le test préféré de nos vieux maîtres, est encore utilisée pour les tests courants d'analyse biologique (des papiers sont imprégnés de réactif). La réaction n'est pas simple : la couleur rouge dépend de l'existence de liaisons peptidiques alors que la coloration bleue qui se surajoute est due à la formation d'amines cuivriques complexes; les mêmes colorations sont obtenues en remplaçant la protéine par le biuret (d'où le nom de la réaction) ou l'oxamine ($COHN_2$ — $CONH_2$) ou encore la malonamide ($CONH_2$ — CH_2 — $CONH_2$), substances aminées mais ne comportant pas de liaisons peptidiques.

◀ ***Floculation d'une protéine après* relargage.**

◀ ***Page ci-contre, à droite, mode de gonflement d'un gel mis en présence d'eau : 1, gel « sec », à mailles étroites; 2, gonflement d'une maille; 3, gonflement d'un gel à mailles faites de filaments pelotonnés; 4, mailles dont les sinuosités sont presque totalement étirées (cas de la gélatine). Le gonflement est favorisé par un acide ou une base :* charge électrique accrue; *il est réduit par la présence de sels qui diminuent* la charge.**

Réaction d'Adamkiewicz

Les protéines contenant du *tryptophane* donnent une réaction violette avec l'acide glyoxylique. Cet acide existe comme impureté dans l'acide acétique; il suffit donc d'ajouter de l'acide acétique ordinaire à la solution protéique.

Réaction du soufre

La plupart des protéines contiennent du soufre, excepté le caséinogène du lait; donc, en général, si l'on ajoute à une solution alcaline de protéines quelques gouttes d'acétate de plomb, il est facile d'obtenir à chaud un précipité noir de sulfure de plomb; en effet, le soufre des acides aminés se fixe sur le sodium dans le cas où l'on alcalinise à la soude, puis le sulfure de sodium formé (Na_2S) réagit avec l'acétate de plomb pour former le précipité noir de sulfure de plomb.

Quelques expériences

Ces réactions colorées, qui peuvent être observées sans difficultés sur les extraits les plus divers, peuvent être également utilisées sur des coupes de tissus frais faites « à main levée »; ainsi, les graines constituent un excellent matériel d'observation dont il est intéressant d'étudier la structure au microscope. On peut employer, par exemple, la graine du haricot ramollie dans l'eau. On effectue des coupes à l'aide d'une lame de rasoir. Au microscope, la réaction xanthoprotéique montre que, chez le haricot, les protéines sont uniformément réparties dans tout le protoplasme des cellules. La réaction d'Adamkiewicz est particulièrement nette; en effet, les protéines du haricot contiennent beaucoup de tryptophane. Par contre, en utilisant un autre type de graine, tel que le ricin (Binet), après élimination par l'alcool absolu de l'huile contenue dans les coupes, on observe que les protéines sont essentiellement accumulées dans des corpuscules de réserve, ou *grains d'aleurone*.

Mais cette dernière réaction est particulière au règne végétal. Chez les animaux, des observations de ce genre montrent une répartition uniforme des protéines.

Principaux types de protéines de structure

Parmi les protéines, on distingue les *protéines de structure* et les *protéines enzymatiques* qui sont très peu concentrées dans les cellules.

L'hydrolyse des protéines de structure peut donner seulement des acides aminés : il s'agit alors d'*holoprotéines*. Si elle donne aussi d'autres substances, on a affaire à des *hétéroprotéines*, ou *protéines conjuguées*, dont les groupements étrangers sont qualifiés de *groupements prosthétiques*. Ces hétéroprotéines seront signalées dans le texte.

Protéines à molécules globulaires

Les molécules sont sphéroïdales ou peu allongées. Ce sont des protéines en général *isostables* (stables au pHi).

Les albumines

Ce sont des holoprotéines dont le pHi est voisin de 5; elles sont très solubles dans l'eau, comme dans les solutions salines peu concentrées; les solutions concentrées les font floculer (phénomène de relargage). On utilise en général le sulfate d'ammonium $SO_4(NH_4)_2$ pour les extraire. Leur poids moléculaire (PM) avoisine 60 000. Comme leur taille est relativement petite, elles exercent une influence sur la pression osmotique du sérum, donc dans les échanges hydriques (J. D. Weill).

Les électrophorèses sur papier ainsi que les chromatographies sur tamis moléculaires permettent de distinguer parfaitement les albumines des autres protéines. Leur dosage, effectué grâce à des systèmes automatiques, permet de surveiller les activités du foie (catabolisme-synthèse).

Il existe trois types d'albumines très communes. La *sérum-albumine* du sang, faite de plus de 500 A.A., constitue la protéine la plus abondante du sérum; elle transporte diverses molécules à rôle biologique important (telles que l'iode, la bilirubine, etc.) ainsi que les médicaments (selon Kruh).

Le sérum contient, en fait, plusieurs dizaines de protéines différentes. Pour effectuer un tri grossier, on précipite, par le sulfate d'ammonium moyennement concentré, toutes les protéines, à l'exception des sérum-albumines, qui restent en solution; on peut donc les séparer, puis les extraire ensuite en les floculant par un apport d'électrolyte concentré. Il y a environ 50 mg d'albumines par gramme de sérum. La *lactalbumine* se trouve dans le lait et l'*ovalbumine* dans le blanc d'œuf.

Les globulines

Leur poids moléculaire moyen est de 150 000 et leur pHi est proche de 7. Certaines de ces protéines sont solubles dans l'eau (protéines isostables), mais d'autres floculent et ne sont solubles que dans les solutions salines très diluées, qui accentuent leur charge.

L'électrophorèse du sérum donne trois groupes de bandes qui correspondent aux types de globulines à pHi différents; celles-ci sont nommées α, β et γ. Les chromatographies sur tamis moléculaires, qui permettent une ségrégation des particules en fonction de leur taille, montrent que les poids moléculaires varient entre 44 000 et 1 500 000 (Weill).

Le fractionnement des globulines se fait souvent en employant la méthode de Cohn, méthode fondée sur une série de précipitations grâce à des sels en solution à différents pH; cette réaction a lieu en présence d'alcool, celui-ci favorisant les floculations en accélérant l'élimination de l'eau liée aux molécules.

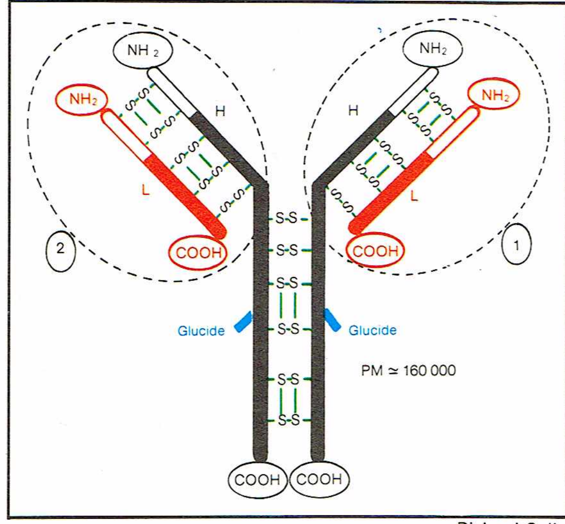
— *Les α globulines*. Elles ont un poids moléculaire compris entre 50 000 et 300 000.

● Elles sont souvent liées aux glucides pour former des hétéroprotéines, les *glucoprotéines :* les α mucoprotéines, α glycoprotéines, et les haptoglobines.

Un ensemble important de glucoprotéines correspond aux facteurs qui déterminent les *groupes sanguins* et qui se trouvent au niveau des globules rouges.

L'*haptoglobine* du sérum est une glucoprotéine dont le rôle biologique n'est pas encore connu avec certitude; on sait qu'elle joue un rôle important dans les phénomènes d'oxydation et qu'elle est alors en combinaison avec l'hémoglobine. La concentration en haptoglobine varie dans certains cas pathologiques et, en particulier, quand il y a lésion inflammatoire aiguë. Elle diminue quand de l'hémoglobine passe dans le plasma (anémies hémolytiques ou troubles postopératoires). Le dosage de cette substance présente un grand intérêt diagnostique. Dans l'espèce humaine, il existe plusieurs types d'haptoglobines; elles servent à déterminer des *groupes sériques,* complémentaires de ceux des globules rouges. La connaissance de ces haptoglobines, qui migrent à des vitesses différentes par électrophorèse, permet d'améliorer les conditions de transfusion sanguine et facilite une analyse plus précise des populations humaines.

● D'autres α globulines se lient à des lipides; ce sont des α *lipoprotéines* de densité très variable. En ce qui concerne les lipides, nous avons souligné l'importance en milieu aqueux de ces liaisons pour le transport de différentes molécules essentielles. De plus, les lipoprotéines forment les membranes de la cellule et de divers organites hyaloplasmiques.



Richard Colin

▶ ***Structure très schématique des Ig G : quatre polypeptides identiques deux à deux; deux chaînes légères (L), en rouge; deux chaînes lourdes (H), en noir; deux sites fonctionnels 1 et 2; leur nature varie suivant celle de l'antigène; l'ensemble de la molécule est très pelotonné, contrairement à ce qui est représenté.***

— *Les β globulines*. Leur déplacement électrophorétique est plus lent. Kruh cite deux exemples de β globulines biologiquement intéressantes : la transferrine et la céruloplasmine.

● La *transferrine* migre relativement vite; son poids moléculaire est de 88 000. Son importance est fondamentale : c'est elle qui capte le fer absorbé par l'organisme (diverses affections entraînant un appauvrissement en transferrine provoquent des anémies résistantes à une thérapeutique martiale).

● La *céruloplasmine,* qui migre très près de la transferrine, est un transporteur du cuivre, métal essentiel (en petites quantités) dans un grand nombre de réactions enzymatiques. L'absence de cette globuline caractérise la maladie de Wilson.

● Les *β lipoprotéines* sont les plus grosses molécules du plasma; leur poids moléculaire atteint 1 500 000; ce sont des hétéroprotéines qui migrent très lentement, elles sont formées par la liaison de β globulines et de cholestérol ou de stéroïdes : elles ont une grande importance pour le transport des hormones stéroïdes.

— *Les γ globulines*. De poids moléculaire voisin de 160 000, elles migrent encore plus lentement que les autres globulines (à l'exception des β lipoprotéines, exceptionnellement volumineuses). On compte plusieurs bandes de γ globulines sur les papiers d'électrophorèse (ou les gels de polyacrylamide du commerce, dont la concentration progressivement croissante permet à la fois l'électrophorèse et le tamisage moléculaire : *électrophorèse gradipore*).

Ces globulines comprennent tous les *anticorps* formés par l'organisme et véhiculés par le sang : il s'agit des *immunoglobulines*.

Les anticorps sont des molécules protéiques de défense qui se forment en réponse à la pénétration dans l'organisme de protéines étrangères (injections expérimentales, pénétration bactérienne, transplantation de tissus ou d'organes). Les anticorps sont doublement spécifiques; ils reconnaissent les protéines de l'espèce à laquelle appartient l'organisme et même ses protéines individuelles; de plus, ils peuvent reconnaître les protéines étrangères (antigènes) et secondairement se combiner avec elles pour les inactiver.

● *Les immunoglobulines G, ou Ig G*. Elles ont donné lieu aux études les plus complètes. Leur poids moléculaire est de 150 000. Chaque molécule est faite de 4 chaînes : 2 chaînes lourdes H *(heavy)* de PM 50 000 et 2 chaînes légères L *(light)* de PM 25 000.

Des liaisons entre les acides aminés soufrés de ces chaînes sont figurées par des ponts disulfure (S-S); de plus, des reploiements des chaînes sont dus à d'autres ponts disulfures, formés entre deux niveaux de la même chaîne. Cette *structure primaire* complexe des Ig G n'est connue que depuis 1969.

La liaison de l'antigène se fait à un niveau constitué par les chaînes L et la moitié N terminale des chaînes H (moitié terminée par un NH_2 libre). Les Anglo-Saxons donnent le sigle F-a-b (antigene binding) à ce site qui s'adapte à l'antigène. Ce site est bien fait de deux moitiés, à la fois issues de L et de H : on peut le constater par digestion enzymatique partielle de ces anticorps. Ces observations ont été effectuées essentiellement sur des malades cancéreux atteints de myélome (tumeur d'une lignée de globules blancs croissant dans la moelle osseuse) ; les cellules de la tumeur, qui prolifèrent activement, fabriquent beaucoup d'anticorps, et tous sont identiques : la tumeur est un clone issu de la multiplication exubérante d'une cellule tumorale originelle (Kruh). Or, il est facile d'isoler les chaînes L des immunoglobulines rejetées dans l'urine de ces malades (protéine de Bence Jones) et d'en étudier ensuite la structure; celle-ci varie suivant les malades, et la variation ne se produit que sur la partie N terminale; on peut en déduire que c'est cette partie terminale qui détermine la spécificité de l'anticorps; on arrive à la même conclusion pour les chaînes H. Il est évident que l'étude de la structure des Ig G va permettre de préciser leur fonctionnement.

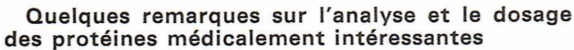
Le *dosage* des immunoglobulines permet de mesurer le degré de résistance des individus vis-à-vis des multiples infections qui les menacent; il est, bien sûr, essentiel pour le traitement des enfants, dont l'aptitude à synthétiser des anticorps peut être insuffisante. Une hypo- ou une agammaglobulinémie peuvent être suspectées dès la naissance dans les cas d'atrophie squelettique ou musculaire, et, chez les jeunes enfants, les angines et la toux sont des indices de même nature. Chez l'adulte, le dosage permet de contrôler l'état de sujets particulièrement vulnérables; on le pratique aussi lors du traitement chimique des cancéreux. Le dosage est fondamental pour la surveillance des patients porteurs d'organes greffés et qui ont besoin d'un traitement destiné à prévenir la destruction du greffon par le malade lui-même.

On constate, en outre, que certaines maladies immunologiques (polyarthrites, lupus érythémateux) impliquent un taux élevé d'Ig G. Il en est de même des affections cardiaques, des tuberculoses, de la syphilis et des troubles ganglionnaires qui ne sont pas immédiatement décelables par l'étude clinique.

Signalons aussi le cas des *ictères,* ou *jaunisses* : les Ig G peuvent être excessivement abondantes s'il s'agit d'une hépatite; par contre, leur taux n'est pas modifié s'il s'agit d'une stase au niveau biliaire provoquée par un calcul ou une tumeur.

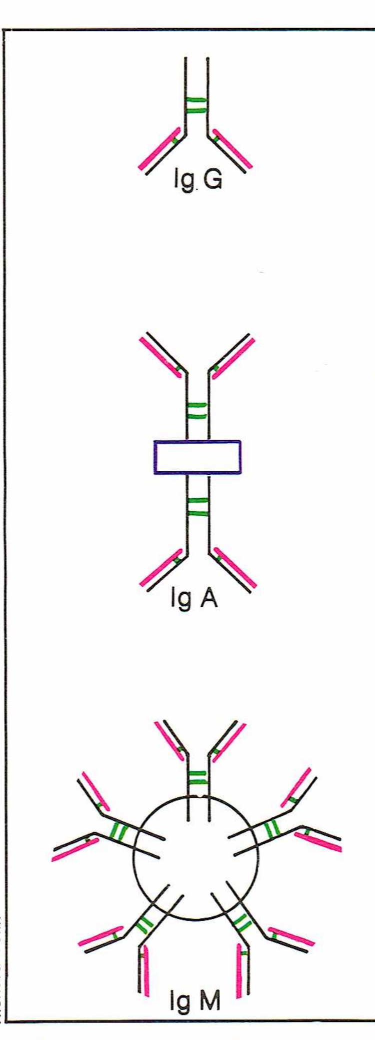
● *Les immunoglobulines A,* ou *Ig A*. On connaît moins bien leurs fonctions; on sait qu'elles apparaissent vers 5 ou 6 ans chez la plupart des enfants et que leur absence ou leur insuffisance va de pair avec des troubles neurologiques. Les adultes peuvent en être dépourvus, ce qui s'explique mal. Par contre, l'abondance des Ig A irait de pair avec des affections virales aiguës. De plus, comme pour les Ig G, leur taux est très élevé chez des malades atteints de myélome multiple; un tel dépistage effectué précocement permet un traitement rapide du cancer.

● *Les immunoglobulines M, ou Ig M*. Elles ont un poids moléculaire pouvant atteindre 900 000. Dans l'espèce humaine, leur quantité augmente avec l'âge. Leur présence est décelable chez le nourrisson qui a contracté une infection (la rubéole par exemple) lors de sa vie intra-utérine. Chez les adultes, les Ig M jouent un rôle important lors de la phase aiguë des infections et dans les hépatites virales. On connaît mal leurs fonctions dans le cas de maladies tumorales, mais elles doivent être importantes, puisque certaines néoplasies entraînent un grand accroissement du taux d'Ig M.

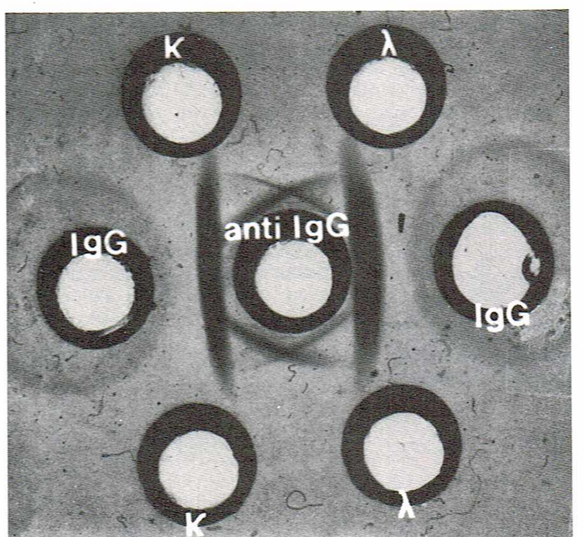


Quelques remarques sur l'analyse et le dosage des protéines médicalement intéressantes

Il existe une méthode d'analyse et de dosage des immunoglobulines qui présente un intérêt tout particulier; le *dosage par immuno-précipitation*. Si l'on met en présence un antigène et son anticorps, ils forment un complexe qui flocule, donc repérable et dosable. Dans une boîte de Pétri, on place les deux substances à quelque distance l'une de l'autre et on les fait *diffuser* sur un milieu adéquat (méthode de la double diffusion mise au point par Oudin et Ouchterlony) ; ces substances migrent et floculent lorsqu'elles se rencontrent : on observe alors une ligne, un front plus ou moins profond et plus ou moins dense; la substance obtenue peut être dosée



▲ *Schéma comparatif des différentes immunoglobulines : en vert, ponts disulfures entre les chaînes.*



Service du professeur Bariety - Hôpital Broussais

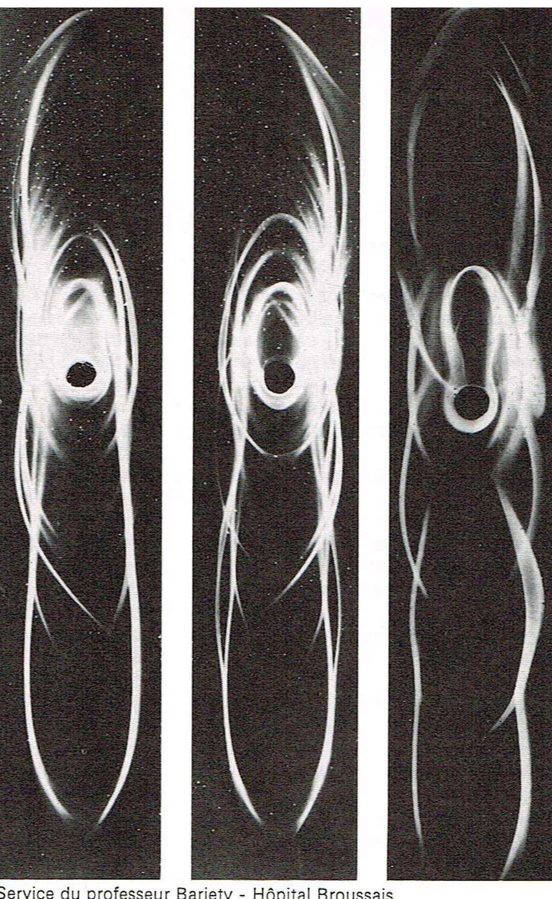
◀ *Technique d'immunoprécipitation (Ouchterlony). Au centre de la plaque : sérum anti-Ig G humain; à gauche, et à droite, on a placé deux échantillons d'Ig G normales; elles réagissent avec le sérum anti-Ig G en donnant l'une et l'autre un précipité abondant. Au-dessous et au-dessus, il s'agit d'échantillons contenant seulement la protéine de Bence Jones (2 formes; urinaires); la réaction de précipitation est nette, mais beaucoup moins intense.*

▼ *A - Principe de fonctionnement d'un anticorps : à gauche, deux molécules que l'organisme considère comme antigènes; à droite, l'organisme fabrique un type de molécule dont la structure peut s'adapter à celle de l'antigène. Il y a deux sites d'adaptation par molécule d'anticorps, 1 et 2. B - Principe de la méthode d'immunofluorescence directe : à chaque expérience, il faut préparer un sérum spécifique de l'antigène. C - Immunofluorescence par la méthode indirecte (schéma de principe). Le sérum spécifique n'est plus nécessaire : les Ig de mouton anti-Ig-lapin peuvent être stockées; la méthode est très sensible.*

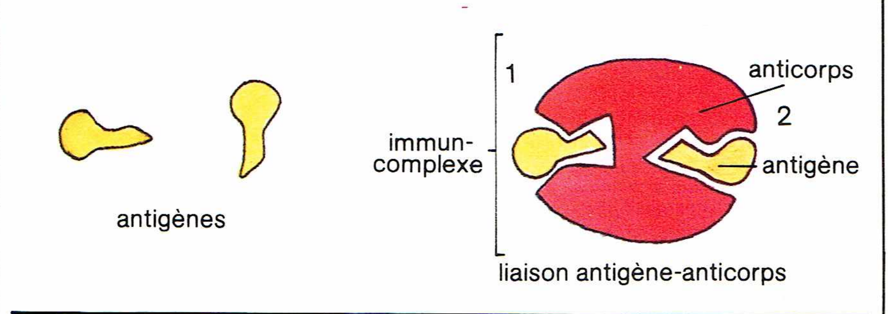
par une méthode optique (la *néphélémétrie*). Il existe des systèmes automatiques permettant de doser en même temps toutes les globulines dont il a été question, mais aussi la sérum-albumine, la transferrine, etc.

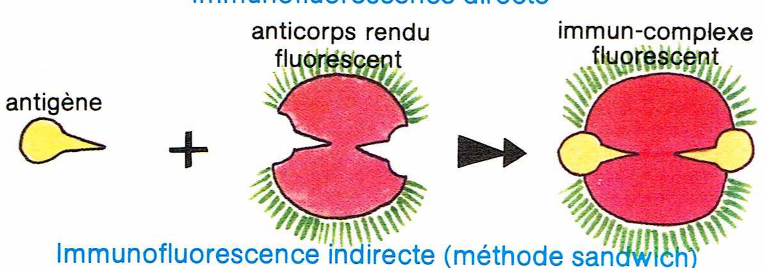
Le dosage des protéines, quelles qu'elles soient, est, en clinique, d'une grande importance diagnostique pour l'étude des maladies rénales. En général, les protéines ne traversent pas les membranes cellulaires. Mais certaines d'entre elles peuvent traverser les parois capillaires, autrement dit, les parois des cellules qui tapissent la face interne des plus petits vaisseaux; il y a ainsi *filtration des protéines* au niveau de milliers de glomérules, pelotons vasculaires chargés de l'épuration rénale du sang. Chez un sujet sain, il y a *réabsorption* de la quasi-totalité des protéines filtrées; elle s'effectue à travers les parois de milliers de tubes excréteurs; ainsi, l'urine normale ne contient que de petites quantités de protéines, albumines et globulines.

Des dosages précis peuvent être effectués par des méthodes très sensibles. On a recours à l'électrophorèse sur papier ou sur gel d'amidon. La technique idéale est cependant l'*immuno-électrophorèse*, mise au point par Grabar en 1952; elle implique une électrophorèse préalable sur gel d'agar, puis une précipitation des protéines à étudier grâce à un *immun-sérum* (sérum antialbumine, sérum anti-Ig G, etc., ou un sérum antiprotéique total; ces sérums contiennent les anticorps capables de réagir avec les substances à doser). Il s'agit donc d'une adaptation à l'étude des solutions protéiques complexes de la technique d'immuno-précipitation.



Service du professeur Bariety - Hôpital Broussais

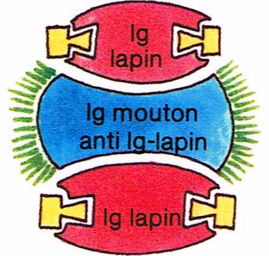




1er temps : formation in-vitro d'un immun-complexe non fluorescent (obtenu à partir d'immunoglobulines de lapin)



2ème temps : fixation d'anticorps fluorescents anti Ig



Richard Colin

Il arrive, dans divers cas pathologiques, que la perméabilité du glomérule soit totalement modifiée ou que la réabsorption protéique s'effectue mal. On observe alors une *protéinurie* non physiologique, qui peut être fort grave. C'est le cas de l'expulsion de la protéine de Bence Jones dont on a parlé plus haut; les chaînes L de cette protéine sont ainsi parfaitement mises en évidence dans l'urine grâce à un sérum de cheval anti-Ig G L.

Au niveau histologique, la technique de Coons (1942) permet de déceler, à la surface de la membrane cellulaire, l'existence d'une substance impliquée dans une réaction immunologique, en particulier d'une protéine. On peut « fabriquer » des *anticorps fluorescents* qui, mis en contact avec la cellule, permettront de localiser l'antigène (immunofluorescence directe). On utilise plus généralement une méthode dérivée, la « méthode-sandwich ».

On peut aussi conjuguer des enzymes aux anticorps ou leur incorporer des éléments marqués. Dans ce dernier cas, la localisation peut même être faite au microscope électronique (Bressard, 1973).

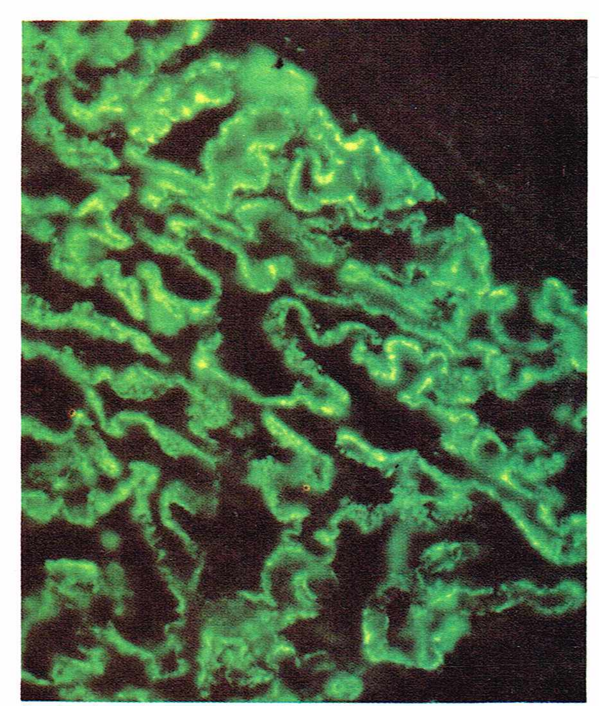
Les protéines basiques

Il en existe deux types principaux; on les trouve dans les cellules et non dans leur environnement.

— *Les histones*. Ces protéines sont accumulées dans le noyau. Elles contiennent environ 15 % d'acides diaminés, qui leur donnent une réaction basique notable. Leur pHi avoisine 10. Leur poids moléculaire est compris entre 10 000 et 20 000. Des extraits montrent qu'il existe essentiellement trois fractions, plus ou moins riches en *lysine* et en *arginine*. Les solutions acides permettent d'extraire ces protéines.

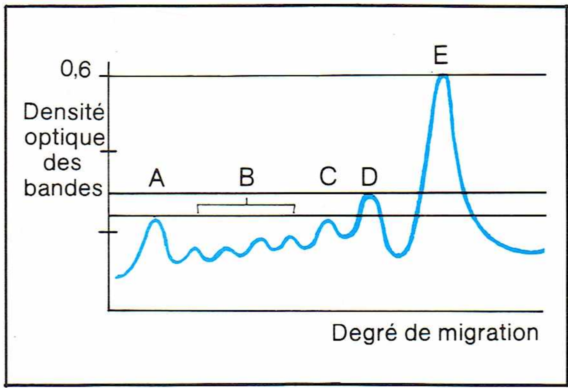
Les histones se fixent au matériel chimique dont dépendent les caractères génétiques de l'être vivant, c'est-à-dire à l'acide désoxyribonucléique; elles auraient pour effet d'inhiber l'activité de certains sites génétiques de cet acide. On dit que, lorsqu'elles sont combinées aux histones, ces régions sont *muettes* (Kruh). Il s'agit d'une combinaison extrêmement importante, car on pense qu'elle est réversible suivant les conditions biologiques, en particulier, lors de la transformation tumorale. Avec les histones, nous sommes au cœur du problème de la « différenciation » cellulaire et de la « dédifférenciation ».

— *Les protamines*. Ce sont des protéines encore plus nettement basiques que les précédentes; elles sont essentiellement constituées par de l'*arginine*, de l'*histidine* et de la *lysine*. Elles sont complexes, bien que leur poids moléculaire soit réduit (5 000). On en trouve de faibles proportions dans la plupart des tissus, mais elles sont abondantes dans les laitances des Poissons; elles sont associées au matériel génétique de tous les spermatozoïdes.


Service du professeur Bariety - Hôpital Broussais

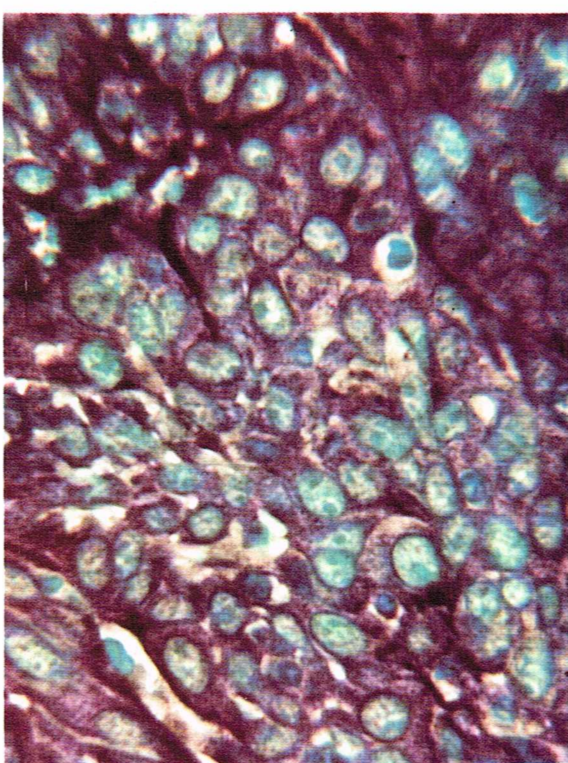
Technique d'immunofluorescence appliquée à l'étude d'une glomérulonéphrite humaine ; le sérum anti-Ig G se fixe sur des dépôts protéiques du glomérule, qui vont de pair avec des troubles de perméabilité considérables.

Page ci-contre, en haut : **immuno-électrophorèse sur gélose.** *Dans la cupule creusée au centre des trois plaques, il y a en* a *du sérum humain normal, en* b *et* c *de l'urine concentrée pathologique. Des sérums de cheval anti-sérum humain ont été versés dans les gouttières longitudinales. Chaque ligne de précipité correspond à une protéine humaine. Les images* b *et* c *sont celles d'une protéinurie non sélective ; en* b*, les Ig G passées dans l'urine, en* c*, les Ig A.*



Richard Colin

Chromatographie des **histones** *extraites de l'intestin.*


J. Bouchard

Coupe de tissu épidermique (tumoral) de souris ; mise en évidence des **histones** *(coloration combinée au fast-green-eosine) que l'on repère au sein du noyau, essentiellement au niveau de la chromatine.*

Les protéines acides

Jusqu'à ces dernières années, peu d'études ont été entreprises dans le domaine des protéines acides, qui sont assez peu connues ; celles-ci, variables suivant les espèces, s'avèrent pourtant d'une grande importance biologique. En 1972, Davis et ses collaborateurs ont montré qu'un organe en contient plusieurs sortes ; leur nombre peut atteindre une trentaine et elles jouent un très grand rôle dans les mécanismes génétiques. En 1969, Hancock avait montré, grâce à des cultures de cellules de souris, que les protéines nucléaires « non histones », c'est-à-dire essentiellement les protéines acides, sont combinées aux chromosomes lors de la division cellulaire. Le rôle des histones et des protéines acides apparaît de plus en plus fondamental, tant dans la croissance et la multiplication cellulaires normales que dans les cas pathologiques tumoraux.

Quelques protéines végétales

Il existe d'autres protéines globulaires : les *gliadines*, ou *prolamines*, riches en proline et en acide glutamique, et les *glutéines*. Leur pHi est voisin de 7, ce qui les rend insolubles dans l'eau pure. Elles sont bien connues chez les végétaux (graines du blé et du maïs).

Protéines hormonales du lobe antérieur de l'hypophyse

— *L'hormone de stimulation folliculaire, ou folliculostimuline (FSH).* Cette hormone est sécrétée par certaines cellules de l'antéhypophyse ; elle favorise, chez la femelle, la sécrétion endocrine du follicule ovarien, donc la sécrétion d'œstrogène. La FSH est une protéine de structure assez mal connue ; la molécule est liée à une copule glucidique complexe : il s'agit donc d'un glucoprotide.

L'étude de cas pathologiques ou de résultats expérimentaux permet de préciser ses effets. Ainsi, on a montré que l'insuffisance antéhypophysaire provoque une involution des caractères sexuels secondaires. Chez la femme, les règles sont supprimées ainsi que la libido. Chez l'animal jeune, l'ablation antéhypophysaire a pour effet de bloquer le développement de l'appareil génital, qui reste infantile, et, chez l'adulte, d'arrêter totalement les fonctions sexuelles. L'injection d'œstrogènes permet la maturation des follicules ovariens atrophiés (Williams, 1940).

Un bel exemple du contrôle mutuel exercé par la FSH et les œstrogènes peut être observé dans l'expérience suivante : si l'on injecte une hormone œstrogène à un animal non hypophysectomisé, les doses faibles favorisent la croissance folliculaire sans modifier la sécrétion de FSH ; par contre, les doses élevées arrêtent totalement la synthèse hypophysaire de FSH. La synthèse de cette hormone hypophysaire dépend de la stimulation du plancher cérébral.

La *FSH n'agit pas que chez la femelle :* cette hormone est la même chez le mâle et permet la *maturation* des cellules sexuelles : son rôle est donc tout aussi essentiel.

— *L'hormone lutéinisante (LH).* Chez la *femelle*, elle agit sur le corps jaune ; si ce dernier persiste, ce qui est le cas s'il y a eu fécondation, cette sécrétion de l'antéhypophyse est indispensable pour que l'embryon reste dans l'utérus ; cependant, la synthèse serait en partie le fait du *placenta* (Philipp et Gey). On a remarqué que la LH ne suffit pas pour stimuler la formation de la progestérone (hormone stéroïde) à partir du corps jaune : il faut, en effet, l'action de deux hormones hypophysaires : la *LH* et la *prolactine*.

Chez le *mâle*, la LH a pour fonction de stimuler la croissance des cellules interstitielles et le fonctionnement des glandes sexuelles annexes.

Il est évident que les fonctions des stimulines ne sont pas faciles à déterminer. Les sécrétions hypophysaires mâle et femelle diffèrent par les proportions d'hormones FSH et LH.

La structure de la LH est celle d'une protéine à poids moléculaire variable suivant l'espèce : 40 000 chez le mouton, 70 000 chez le porc. De plus, il y a de nettes différences du point de vue physico-chimique ; en particulier, le point isoélectrique est, pour ces deux espèces, respectivement de 4,6 et de 7,4 ; la différence est très considérable et implique une composition très différente. La LH est aussi un glucoprotide, comme la FSH.

▶ Page ci-contre, étudiant la structure primaire de l'hémoglobine, Zuckerkandl constata que les séquences communes à deux espèces sont d'autant plus nombreuses que celles-ci sont moins éloignées du point de vue systématique; ce qui est le cas — rappelons-le s'il en est besoin — pour le porc et le cheval par exemple (Ongulés Artio- et Périssodactyles).

Comme pour la FSH, la concentration de LH dans l'organisme dépend du taux d'une hormone ovarienne : la progestérone. Les influences sont réciproques, chacune des hormones déterminant le taux de l'autre. Le système nerveux exerce encore un contrôle sur l'ensemble du mécanisme. Ainsi, chez le canard, Benoit a pu montrer que la lumière, en excitant le tractus optique puis le cerveau, provoque une réaction au niveau du plancher cérébral; cette réaction déclenche les synthèses antéhypophysaires qui sont responsables de la maturation génitale. Il faut noter aussi l'influence des facteurs psychiques sur ces sécrétions; ainsi un choc visuel stimule la formation de LH chez le pigeon, et une émotion violente peut provoquer un arrêt de sécrétion des gonado-stimulines chez la femme.

Les problèmes posés sont très complexes; ainsi, les hormones, tant hypophysaires que sexuelles, peuvent agir en *synergie* et, d'autre part, il existe de grandes différences d'activité selon les espèces.

— *La thyréostimuline, ou hormone thyréotrope*. Découverte en 1929 par Aron ainsi que par Loebb et Bassett, cette hormone stimule toutes les étapes de la synthèse d'hormone thyroïdienne, la *thyroxine*, hormone contrôlant le catabolisme cellulaire, c'est-à-dire les combustions nécessaires pour les synthèses. La thyréostimuline se présente sous forme d'un glucoprotide de poids moléculaire voisin de 10 000. On connaît assez mal la structure de cette hormone.

Son rôle a été montré très clairement de diverses manières. Citons simplement l'expérience de Bottari (1957). Ce chercheur cultivait des fragments thyroïdiens et les traitait par diverses doses de stimulines; puis il introduisait de l'iode radioactif 131 dans le milieu de culture et déterminait ensuite, demi-heure par demi-heure, le taux d'hormone thyroïdienne libéré par les fragments cultivés; en trois heures, le taux de thyroxine marquée subissait un accroissement extrêmement significatif. En effet, la thyréostimuline, grâce à un système de transport actif, permet à la thyroïde d'extraire les traces d'iode contenues dans le sang. La thyroxine est une iodothyronine, c'est-à-dire un métabolite fortement iodé d'une protéine globulaire. D'autre part, la lyse de cette protéine dépend aussi de la thyréostimuline. La synthèse de la stimuline est contrôlée, en retour, par la thyroxine (Aron).

— *La somatotrophine, ou hormone somatotrope (STH)*. C'est l'hormone de croissance, protéine variable suivant les espèces. Son poids moléculaire est de 46 000 chez le bœuf, de 25 400 chez le singe, et de 27 100 chez l'homme. Si les hormones du porc ou du bœuf n'agissent pas chez le singe ou chez l'homme, celles de l'homme et du singe sont efficaces chez le rat. En fait, il existe un noyau actif polypeptidique commun mis en évidence par digestion partielle de STH grâce à la chymotrypsine (endopeptidase). Le mode d'action de cette hormone est complexe. Des injections ne provoquent pas les mêmes résultats chez le jeune et chez l'adulte : chez le jeune, elles peuvent entraîner le gigantisme; chez l'adulte, il y a au contraire un métabolisme excessif des lipides qui se dégradent, ainsi qu'une utilisation excessive des protides et des glucides, avec hyperglycémie et glycosurie; Houssay provoquait ainsi des troubles rappelant le diabète par injection de STH. Comme un excès de STH amène des perturbations qui rappellent l'hypofonctionnement des cellules à insuline du pancréas, on peut dire, pour simplifier, qu'il y a un antagonisme entre l'hormone de croissance hypophysaire et le pancréas endocrine sécréteur d'insuline. En fait, le processus est encore plus complexe, l'action de la STH dépendant du fonctionnement de toutes les glandes endocrines.

Une hétéroprotéine globulaire très particulière : l'hémoglobine

L'importance de l'hémoglobine est telle qu'il est nécessaire de l'étudier plus particulièrement, d'autant que sa structure est maintenant connue d'une manière fort détaillée. Il s'agit d'une hétéroprotéine que l'on place parmi les *chromoprotéines;* la coloration est due à la présence d'éléments métalliques dans la molécule.

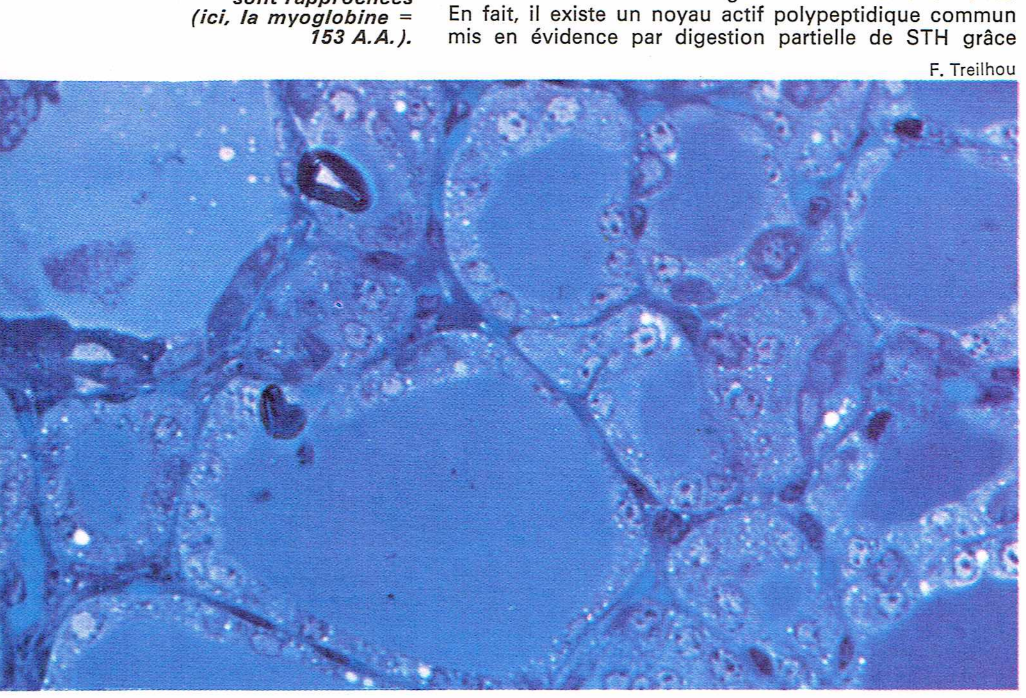
— *Généralités*. Le métal de la molécule d'hémoglobine est un atome de fer; il est lié à un ensemble de 4 noyaux pyrroliques et à l'histidine (acide aminé cyclique); l'ensemble forme la *ferroprotoporphyrine*, ou *hème*, groupement actif de la molécule; le « résidu histidine » est lié à une longue chaîne polypeptidique de globine (chaîne α comportant 141 acides aminés ou chaîne β avec 146 acides aminés). La structure primaire de la molécule a été établie par Braunitzer, grâce à la méthode de fragmentation, puis de détermination des acides aminés terminaux.

L'hémoglobine humaine est appelée Hb A. Il existe aussi, au moins chez l'homme adulte, une petite quantité d'une autre hémoglobine (Hb A_2) dont les chaînes β sont remplacées par des chaînes δ, très peu différentes. Par ailleurs, avant la naissance, on distingue une hémoglobine fœtale (HbF) où les chaînes β sont remplacées par des chaînes γ, relativement différentes. Les hémoglobines de ce type n'ont pas la même vitesse de migration électrophorétique. En 1971, Rosa et ses collaborateurs ont montré que l'hémoglobine F reparaît chez l'adulte : son taux augmente progressivement et dépendrait du passé clinique de chacun; les maladies acquises induiraient la formation de cette protéine fœtale.

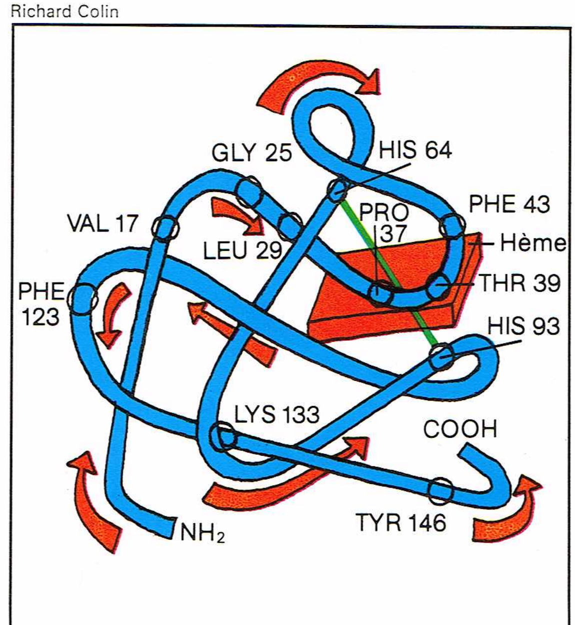
— *Structure secondaire*. Depuis 1940 environ, on se demandait quelle pouvait être la structure secondaire de la globine; en effet, certaines expériences montraient que les chaînes des acides aminés ne pouvaient pas être

▼ A gauche, coupe de thyroïde de souris (coupe dite « semi-fine » : le milieu d'inclusion, une résine synthétique, permet d'effectuer des sections de faible épaisseur, environ 1µ). Les vésicules thyroïdiennes contiennent un stock abondant de sécrétion dont le volume dépend de la TSH qui parvient aux cellules grâce à un réseau de capillaires sanguins (bleu ciel). A droite, la position de certains acides aminés est sensiblement la même pour toutes les hémoglobulines *et les* myoglobines. *Ces A.A. sont souvent placés à des niveaux où deux boucles de la chaîne sont rapprochées (ici, la myoglobine = 153 A.A.).*

F. Treilhou



Richard Colin



de forme quelconque; l'existence de chaînes spiralées ou pliées en accordéon devait être envisagée. L'organisation secondaire fut déduite des analyses faites par la méthode de diffraction des rayons X.

Pour les protéines globulaires, telles que l'hémoglobine, la forme de la structure secondaire n'est pas celle d'un accordéon, mais d'une *spirale* (Perutz, 1951), dite spirale α. On démontre qu'il existe 3,6 résidus R par tour de spire, soit 18 pour 5 tours. Chaque tour de spire est relié au précédent et au suivant par des liaisons hydrogène. La position des résidus R des acides aminés, résidus extérieurs à la spire, n'a pas d'influence sur la structure secondaire : on dit qu'ils n'ont pas d'*influence stérique;* par contre, ils favorisent la cohésion de l'ensemble par des liaisons hydrogène supplémentaires non négligeables.

Perutz a montré, dès 1949, que, dans le cas particulier de l'hémoglobine, la *dénaturation* chimique par rupture des liaisons hydrogène donne naissance, à partir de la protéine globulaire, à des chaînes polypeptidiques longues, non spiralées. Il existe une méthode optique permettant de confirmer l'existence de la structure secondaire des protéines natives. Ainsi, la spiralisation entraîne une dissymétrie moléculaire qui donne à une chaîne polypeptidique un pouvoir rotatoire caractéristique en lumière polarisée (Fitts et Kirkwood, 1956; Yang et Doti, 1957).

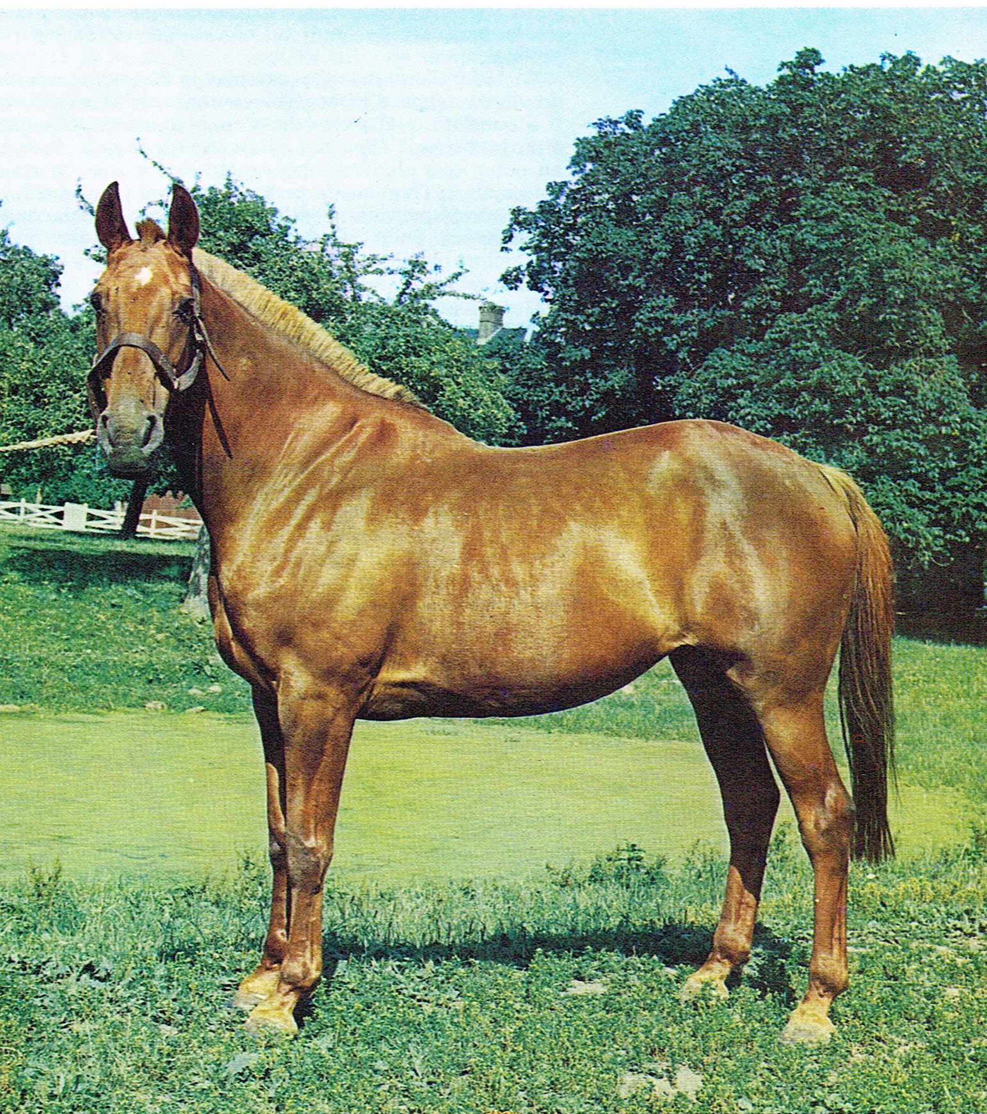
— *Structure tertiaire.* On savait depuis longtemps que les particules protéiques devaient avoir des formes complexes. La viscosité des molécules globulaires (en pelotons) dépend directement de leur conformation; le fait que la viscosité soit caractéristique d'une protéine donnée tendait à prouver que la structure globulaire de chaque espèce moléculaire devait être quelque chose de fixe. On constata d'abord que les pelotes des protéines globulaires n'étaient pas fortement serrées; en effet, la viscosité augmente plus vite que la longueur des chaînes, ce qui signifie que la pelote emprisonne une partie du solvant (ce phénomène n'a aucun rapport avec la solvatation).

Grâce à la technique de diffraction des rayons X, Perutz et Kendrew purent analyser plus précisément la structure globulaire de l'hémoglobine. Pour permettre l'interprétation des diagrammes, ils substituèrent des atomes de *métaux lourds* en des points connus de la molécule et les utilisèrent comme repères. La masse des résultats fut traitée par ordinateur; on obtint ainsi la reconstitution spatiale d'un *modèle moléculaire.*

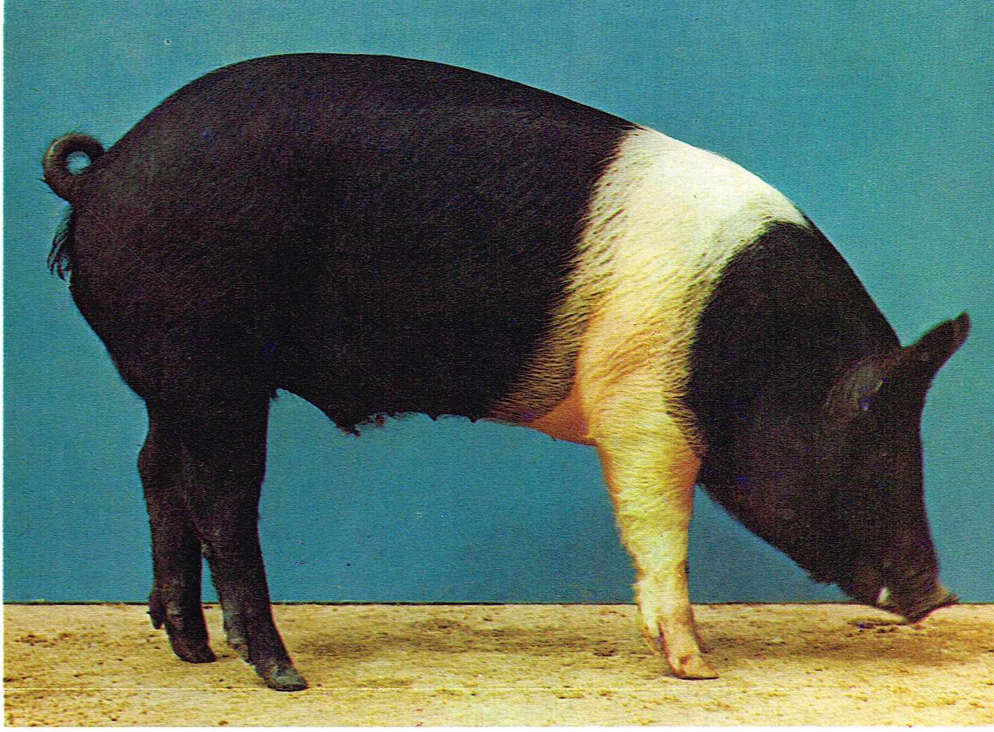
A l'heure actuelle, peu de molécules protéiques sont aussi bien connues que l'hémoglobine. La forme de la molécule, à vrai dire très curieuse, est une forme fixe, très stable dans les conditions physiologiques : la spire de globine conserve une *structure tertiaire* caractéristique, et l'hème s'accroche à un niveau précis.

Comment cette forme peut-elle s'établir? Comment peut-elle être conservée? On sait que l'intégrité de la structure secondaire est maintenue par des liaisons *hydrogène* nombreuses; celles-ci interviennent aussi dans le cas de la structure tertiaire, mais il existe d'autres types de liaisons qui jouent un rôle essentiel : on trouve des *ponts disulfure,* facilement établis entre les radicaux sulfhydrilés des acides aminés soufrés; de telles liaisons covalentes existent dans la plupart des protéines. Les chaînes latérales de divers acides aminés peuvent présenter d'autres types de relations : des *attractions électrostatiques* entre NH_3^+ et COO^-; des *attractions de deux points hydrophobes* (le milieu biologique étant aqueux, les points hydrophobes se groupent); des *attractions du type Van der Waals* entre deux pôles identiques hydrophiles.

Pour tenter d'expliquer la structure tertiaire des hémoglobines, on a dit que le « centre » de cette protéine globulaire comporte un maximum d'acides aminés à radicaux libres hydrophobes, donc groupés par leur commune « désaffection » pour le solvant aqueux, alors que la périphérie comporte des acides à radicaux hydrophiles. Il faut remarquer que les coudures de la chaîne sont souvent dues à l'existence, à ce niveau, d'un acide aminé particulier (Neurath) : ainsi le *glycocolle,* dépourvu de radicaux latéraux, se prêterait au reploiement de la chaîne; Pauling considère que la *proline* joue le même rôle. Celle-ci, quand elle est intégrée dans un polypeptide, entraîne logiquement la formation d'un coude.



Marka

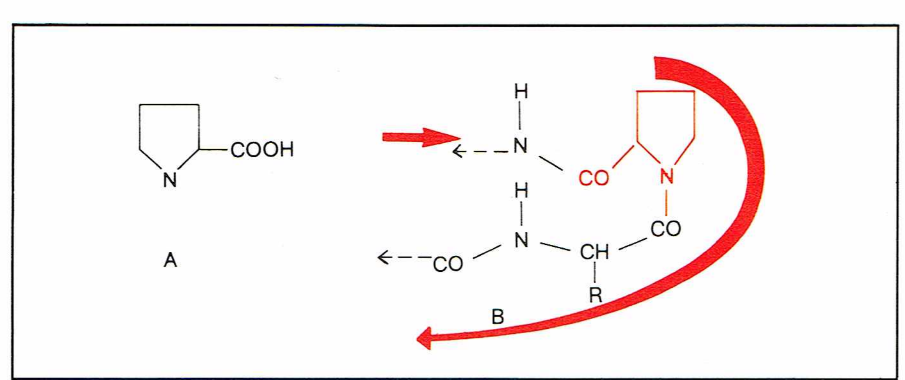


D. Yacar

Dans le cas de la globine, il est exact que plusieurs coudes de la molécule se font au niveau de molécules de proline.

En 1966, Zuckerkandl a comparé la structure primaire de divers types d'hémoglobines chez les Mammifères. Il a constaté qu'il existe de nombreux *points d'identité* entre les hémoglobines des différentes espèces. Il observa, en outre, que plus les espèces comparées sont voisines (le gorille et l'homme, le porc et le cheval par exemple), plus les séquences identiques d'acides aminés sont nombreuses. Enfin, résultat surprenant à première vue, la structure tertiaire des chaînes β est la même dans tous les cas étudiés.

On revient, en conséquence, à l'idée que les organismes vivants ont « choisi » d'emblée le type parfait de la molécule biologiquement active pour une fonction donnée. En d'autres termes, la structure tertiaire de l'hémoglobine est une structure fonctionnelle primitive, déterminée au moment de l'apparition des Mammifères, alors que la structure primaire serait susceptible d'une évolution et d'une adaptation à des conditions de vie qui se modifient. Les points d'identité subsistant entre les espèces les plus primitives et celles que l'on considère comme les plus évoluées correspondent seulement à une vingtaine d'acides aminés, souvent groupés.



Richard Colin

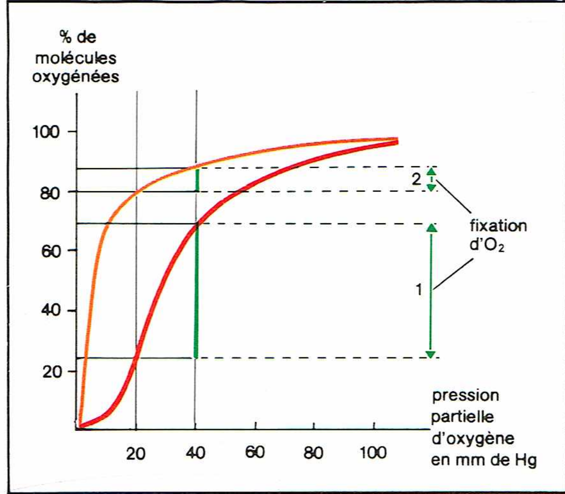
▲ *A gauche, représentation schématique du rôle de la proline dans le reploiement des chaînes protéiques : A, molécule de proline (acide iminé); B, plusieurs prolines sont placées au niveau des coudes des chaînes de globine. A droite, conséquence de l'effet coopératif des molécules d'hémoglobine; ici, courbes de saturation de la myoglobine et de l'hémoglobine par l'oxygène de l'air : pour des pressions partielles d'oxygène relativement élevées (pression atmosphérique), l'hémoglobine fixe beaucoup plus d'oxygène (1) que la myoglobine (2). Inversement, au niveau des tissus où la pression est inférieure à la pression atmosphérique, Hb cède beaucoup plus d'oxygène que ne le fait la myoglobine.*

Si les différences sont grandes entre les chaînes de globine des Mammifères, il faut imaginer qu'elles se sont établies lentement par des mutations successives et très nombreuses, chaque substitution d'un acide aminé donnant un mutant dont les descendants n'ont peut-être pas évolué pendant plusieurs dizaines de millions d'années. Chaque substitution s'est faite en respectant le caractère hydrophile ou hydrophobe de l'acide aminé initial, ainsi, on peut supposer que l'évolution et la sélection ont entraîné, de mutation discrète en mutation discrète, d'énormes transformations de la structure primaire sans altérer notablement la forme fonctionnelle de l'hémoglobine.

— *Structure quaternaire.* La molécule d'hémoglobine n'a pas seulement une structure tertiaire : la structure quaternaire est obtenue par l'accolement de 4 « molécules » fondamentales, formées chacune de l'hème et de la globine. La structure quaternaire de l'hémoglobine correspond donc à 2 chaînes de globine α et 2 chaînes β. C'est sous cette forme de tétramère que l'hémoglobine est réellement efficace du point de vue respiratoire comme *transporteur d'oxygène*. Il existe dans les muscles une *myoglobine* qui a la même constitution d'ensemble que la molécule fondamentale d'hémoglobine, mais qui est très loin d'être aussi importante du point de vue respiratoire : demeurée à l'état de monomère, elle assure seulement la mise en réserve temporaire de l'oxygène. Une anecdote au sujet de la myoglobine : lorsque Kendrew entreprit de l'étudier, on ne connaissait pas sa structure primaire; seuls quelques fragments de la chaîne avaient été analysés. Kendrew construisit un modèle grâce à la technique de diffraction des rayons X, et c'est alors seulement que, à partir de la structure tertiaire, il réussit à reconstituer l'ensemble de la structure primaire; en effet, connaissant une partie des acides aminés ainsi que la conformation de la molécule, on peut prévoir que les « trous » de la chaîne sont occupés par certains acides aminés, et non par d'autres. Les résultats qu'il obtint furent confirmés par la suite.

— *Fonctionnement de l'hémoglobine.* Les 4 molécules fondamentales d'hémoglobine sont intimement accolées pour former un complexe globulaire. Lors de l'oxygénation, au niveau des branchies des Poissons ou des poumons des Mammifères, l'atome de fer d'un hème se déplace par rapport au plan tétrapyrrolique; ce déplacement, estimé à 7 Å, est très largement suffisant pour déclencher, dans les trois autres molécules associées, une absorption rapide d'autres atomes d'oxygène; c'est l'*effet coopératif* qui est encore mal connu.

Perutz et ses collaborateurs ont montré que dans certaines anémies cette déformation de l'hémoglobine est impossible : il n'y a pas chez les malades de synthèse des chaînes de globine α, et leur hémoglobine, nommée β_4, est très insuffisante pour l'oxygénation. En fait, il existe de nombreux types d'anomalies. L'anomalie S s'observe dans les cas de *drépanocytose* (anémie falciforme), c'est-à-dire chez les personnes dont les hématies ont un *aspect de croissant* sur les frottis



Richard Colin

effectués pour l'observation microscopique; dans le sang circulant, bien oxygéné, ces globules rouges ont une forme normale; ils prennent une forme en croissant quand la tension de O_2 baisse. On a montré que l'hémoglobine de telles hématies est très peu différente de la normale. Pourtant, cette anomalie va de pair avec une tendance chronique à l'asphyxie, qui peut être mortelle. Cette maladie de biosynthèse est assez répandue pour que l'on pratique systématiquement l'analyse de l'hémoglobine chez un très grand nombre d'individus; on a ainsi constaté une répartition géographique souvent très nette pour beaucoup d'anomalies, véritables maladies génétiques à l'échelle d'une population.

L'analyse rapide des hémoglobines, c'est-à-dire le dépistage des anomalies, est rendue possible par la technique dite des « empreintes digitales ». On hydrolyse l'hémoglobine par la trypsine, qui libère des polypeptides; on effectue alors une chromatographie sur papier, suivie, sur le même papier, d'une électrophorèse dans une direction perpendiculaire à la chromatographie. On constate ainsi que l'hémoglobine S ne diffère de la normale que par *une tache,* ce qui correspond à la substitution d'un seul acide aminé d'un polypeptide, la valine remplaçant l'acide glutamique (Ingram).

On systématise la nomenclature des hémoglobines, dont la liste s'allonge. Ainsi, l'hémoglobine humaine (A) normale s'écrit : Hb A, ou Hb α_2^A, β_2^A; alors que l'hémoglobine fœtale s'écrit : Hb F, ou Hb α_2^A, γ_2^A. Dans le cas de l'hémoglobine sans chaînes α, on utilise le sigle Hb β_4^A, etc.

— *La synthèse de l'hémoglobine.* Cette synthèse comporte un nombre d'étapes élevé. Nous en donnerons un aperçu instructif.

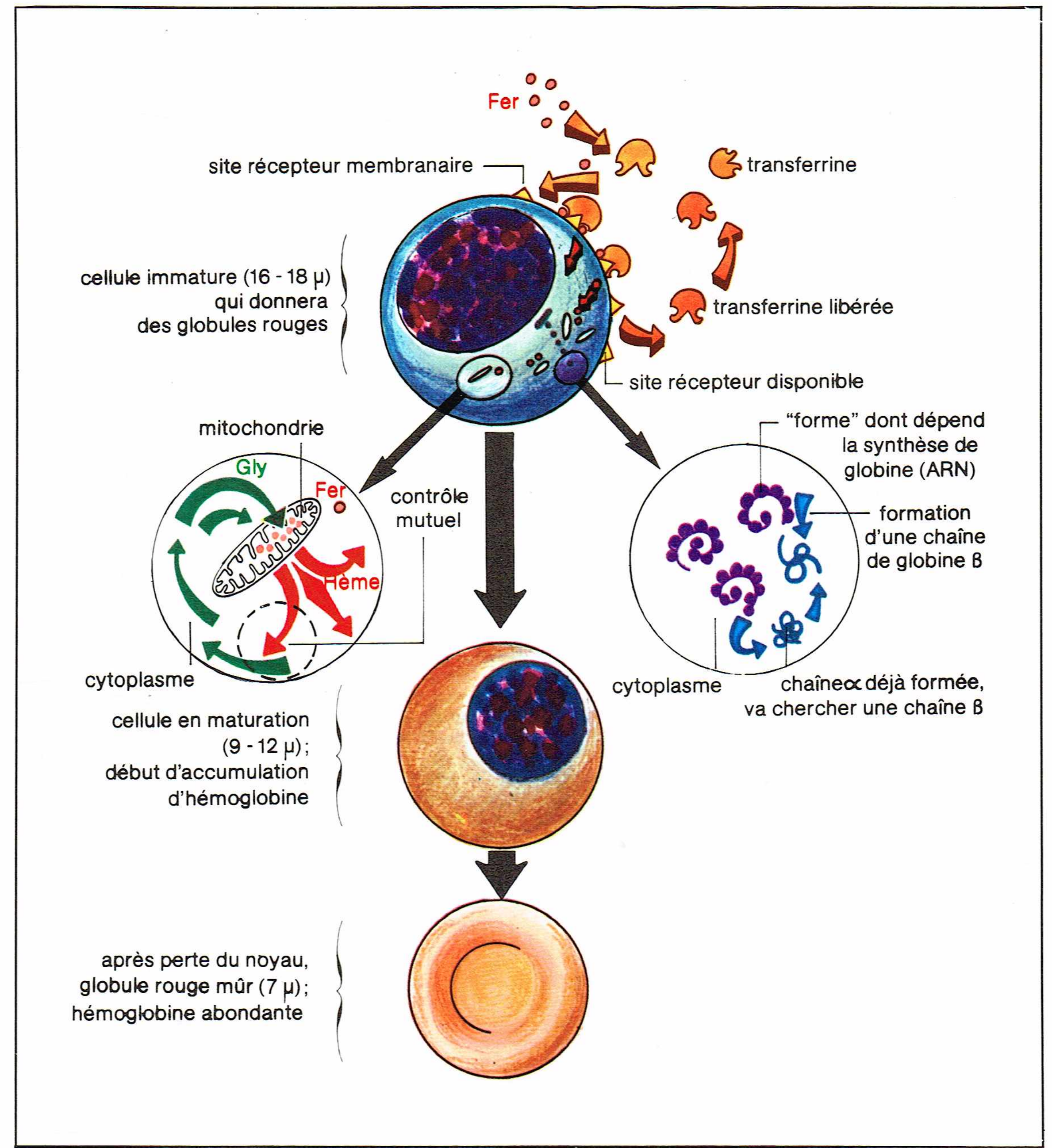
● *La synthèse de l'hème* est effectuée par des cellules sanguines jeunes, qui, chez l'adulte, sont contenues dans la mœlle osseuse. Le fer dissous dans le sang est transporté par une protéine plasmatique qui favorise son entrée dans les cellules : il s'agit d'une glycoprotéine, une β_1 globuline, la *transferrine*. La transferrine se fixe

préférentiellement sur les cellules souches de la lignée des globules rouges, ou *lignée érythrocytaire*. Il existe des *sites récepteurs* de transferrine à la surface des membranes de ces cellules; seul le fer pénètre dans le hyaloplasme, la transferrine étant alors libérée. Le fer parvient aux mitochondries qui effectuent secondairement la synthèse de l'hème (Shemin), pour laquelle plusieurs enzymes sont nécessaires. Les étapes ont été étudiées en utilisant des précurseurs radioactifs ingérés par l'animal ou ajoutés à un milieu de culture dans lequel on incube des cellules jeunes d'Oiseaux et de Mammifères. C'est le glycocolle qui sert de base à la construction. La synthèse de l'hème est contrôlée par l'hème lui-même, qui, s'il est en excès, freine l'utilisation du glycocolle (Karibian et London). La globine, toujours en excès, contrôle aussi cette synthèse (Odartchenko).

● *La synthèse des 4 globines* s'effectue directement au contact d'une « forme » existant à l'intérieur des cellules jeunes de la lignée rouge et constituée par des *acides nucléiques*. On estime qu'une chaîne α de globine nouvellement formée *va chercher* une chaîne β en formation sur un site voisin; autrement dit, les structures de la chaîne α sont telles qu'elles favorisent une coaptation avec la chaîne β en formation et qu'elles permettent, en conséquence, sa libération dans le hyaloplasme à partir des sites nucléiques de synthèse : le taux de globine β dépend directement du taux de globine α. Le tétramère normal $\alpha_2\ \beta_2$ se forme ensuite par une coaptation de même nature. La synthèse de globine serait contrôlée par l'hème : l'absence des précurseurs de l'hème freinerait la formation de globine (Morell et coll.).

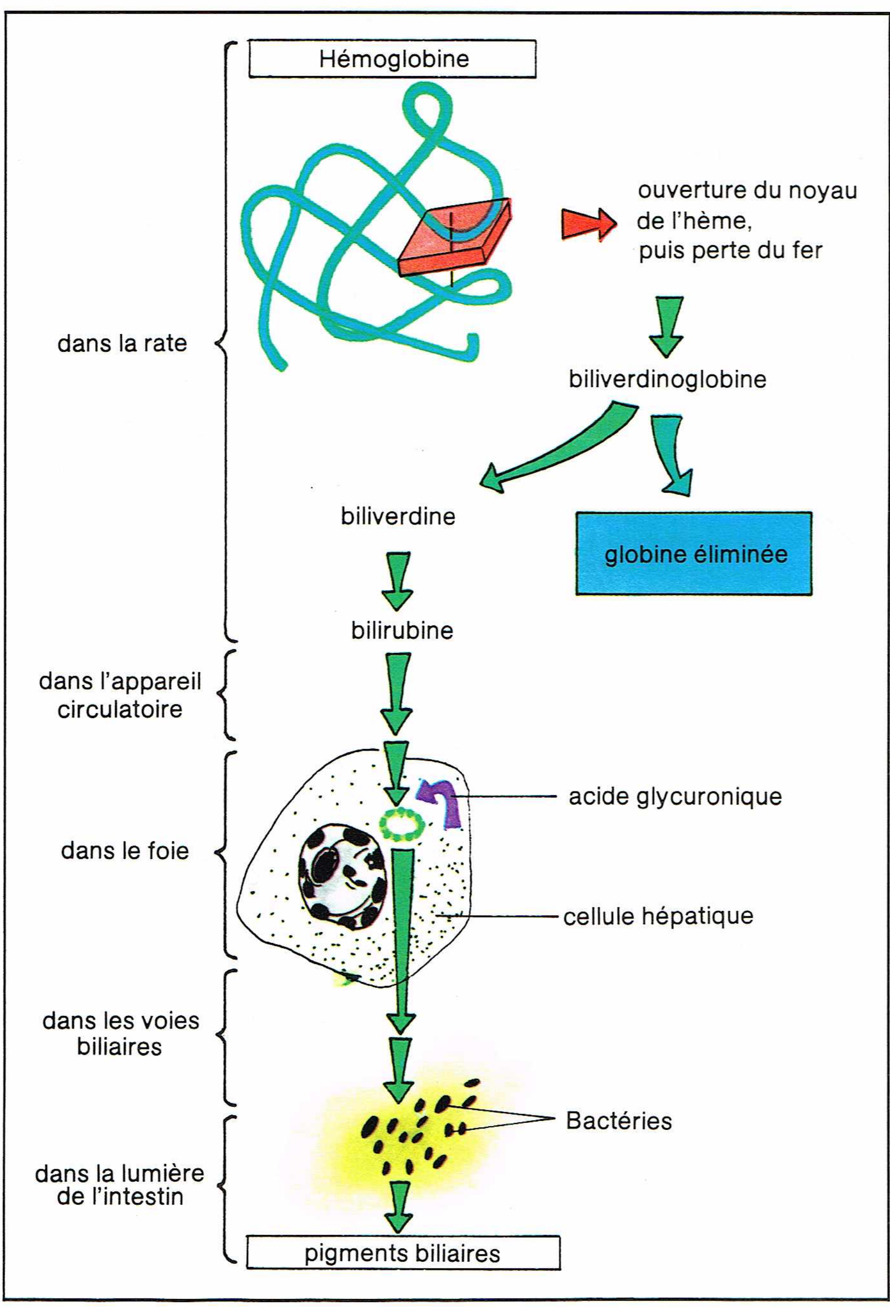
● *La liaison de l'hème et de la globine* s'effectue à un stade encore mal déterminé (Kruh).

Cet aperçu du mode de synthèse de l'hémoglobine permet de concevoir quelle peut être la complexité de la formation d'une protéine; celle-ci fait intervenir des mécanismes subtils, qui impliquent une régulation, un contrôle continu des réactions, contrôle qui s'effectue à divers niveaux tant au sein d'une cellule souche que dans l'organisme entier. De telles synthèses, qui se déroulent durant toute la vie de l'individu, puisque les hématies ont une vie assez courte et sont donc continuellement renouvelées, mettent en jeu des systèmes régulateurs perfectionnés et stables. Odartchenko estime à $2 \cdot 10^{11}$ le nombre de globules rouges fabriqués en 24 heures par un être humain. Si la synthèse de toute protéine, même « simple », est un phénomène très complexe, il faut signaler toutefois que la synthèse de l'hémoglobine est, en fait, particulièrement compliquée. Cela tient à sa constitution dualiste et à sa structure quaternaire.



Richard Colin

◀ ***Représentation schématique de la*** **synthèse de l'hémoglobine.**



Richard Colin

▲ ***La* dégradation de l'hémoglobine *se produit lors de la dégénérescence des globules rouges vieillissants.***

— *La dégradation de l'hémoglobine* se produit lors de la dégénérescence des globules rouges vieillissants; c'est un processus qui concerne 2 · 10^{11} cellules par 24 heures dans le cas de l'homme. Après 120 jours de vie, les hématies sont détruites, en particulier dans la rate. L'hémoglobine subit de profondes modifications. On constate d'abord l'ouverture du noyau de l'hème, puis la perte du fer : on obtient la *biliverdinoglobine;* ensuite, la globine disparaît, et les constituants de l'hème déformé représentent la molécule de *biliverdine,* secondairement transformée en *bilirubine*. Celle-ci est emportée par le courant circulatoire, puis extraite par les cellules hépatiques où elle se combine à l'acide glycuronique; la substance ainsi formée est expulsée dans la lumière de l'intestin par l'intermédiaire des voies biliaires. La flore bactérienne intestinale poursuit la transformation qui aboutit aux *pigments biliaires* (ne pas confondre avec les acides biliaires).

Si la conjugaison de la bilirubine avec l'acide glycuronique ne peut pas se faire dans le foie, la bilirubine s'accumule alors dans le sang; dans d'autres cas, si les voies biliaires sont obturées par un calcul ou une tumeur, la bilirubine conjuguée ne peut pas atteindre l'intestin et retourne dans le sang. Dans les deux cas, le résultat est une jaunisse.

Remarquons enfin que les métabolites bactériens de la bilirubine conjuguée ne sont pas entièrement éliminés par la voie intestinale; en effet, une partie d'entre eux sont réabsorbés par le système circulatoire de l'intestin et entraînés vers les reins pour être éliminés avec l'urine. Ce phénomène, absolument normal, n'est pas clairement interprété. Par ailleurs, les A.A., libérés par la protéolyse de la globine, sont *réutilisés* ou fragmentés avec *élimination* d'*urée.*

Protéines à molécules fibreuses, ou protéines fibrillaires

Il existe deux types distincts de protéines fibrillaires : les *protéines* facilement *solubles* et les *protéines peu solubles* ou *pratiquement insolubles* (scléroprotéines).

Protéines solubles

Nous verrons très rapidement la nature et la fonction de deux protéines solubles, le *fibrinogène* et l'ensemble *actine-myosine*. Ces protéines ont été très étudiées. Il en existe d'autres, dont nous aurons l'occasion de parler lors de l'analyse des phénomènes de division cellulaire.

— Le *fibrinogène*. Cette protéine est un matériel de base pour la coagulation sanguine, puisqu'elle se transforme en fibrine, insoluble en présence d'ions Ca^{++}. Le fibrinogène du plasma sanguin est une substance volumineuse de poids moléculaire 340 000. Sa structure est déjà fibrillaire. On y a trouvé 6 chaînes polypeptidiques partiellement spiralées et liées par des ponts disulfure. Durant une électrophorèse du plasma, le fibrinogène migre avec les globulines. La *thrombine,* enzyme responsable de sa transformation en fibrine, sectionne la molécule en lui enlevant deux groupes de peptides, les *fibrinopeptides* (Laki, 1960), soit, au total, 30 acides aminés, parmi lesquels beaucoup d'*acide glutamique;* le reste de la molécule, devenu instable, va s'associer avec d'autres restes de fibrinogène, grâce à des liaisons hydrogène extrêmement nombreuses; l'ensemble constitue alors un feutrage de *fibrine,* substance insoluble et fortement polymérisée.

Dans le plasma, les molécules de fibrinogène se repoussent grâce à leurs *charges négatives,* qui sont dues aux acides glutamiques; il ne saurait donc y avoir de groupement des molécules fibrillaires de fibrinogène. L'élimination des charges négatives est donc à la base de la formation de fibrine dans le caillot qui se constitue, par exemple, dans une blessure. Le caillot se redissout durant la première étape de cicatrisation. Cette dissolution est due à une enzyme, la *fibrinolysine,* qui digère totalement le réseau. Mais, pour agir, l'enzyme doit être activée, et il est bien évident que cette activation n'est pas possible dans le plasma du sang circulant, car, après une blessure, le caillot ne pourrait pas se former... Cette redissolution n'est pas un phénomène plus simple que la formation du caillot; elle implique la mise en jeu d'un système régulateur enzymatique très élaboré.

— *La myosine et l'actine : un ensemble protéique contractile*. Ce sont des protéines des muscles, plus précisément des myofibrilles. On peut les extraire par des solutions salines concentrées qui provoquent leur floculation. Ces deux substances constituent 80 % des protéines obtenues de cette manière.

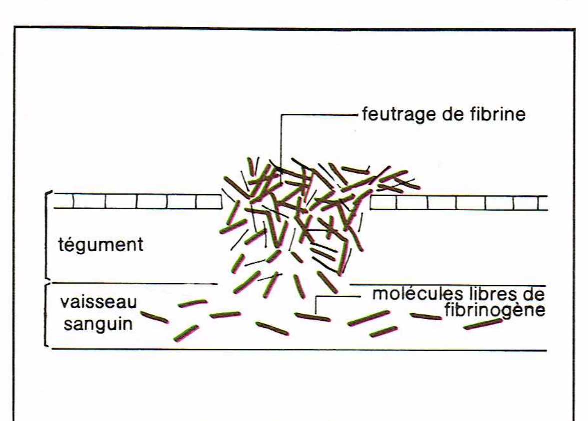
● L'*actine* a un poids moléculaire variant entre 56 000 et 70 000. En effet, suivant le degré de polymérisation, elle existe sous forme globulaire ou sous forme fibrillaire. La forme fibreuse atteint 300 Å de long, ce qui permet son observation au microscope électronique.

● La *myosine* est plus lourde (son poids moléculaire est de 468 000) et plus longue (1 600 Å). Elle comporte une partie globuleuse et une partie fibreuse qui constituent la méromyosine. Insistons, comme Favard, sur le fait que la myosine est non seulement une protéine de structure, mais aussi une protéine enzymatique; en effet, elle catalyse l'hydrolyse de l'ATP, qui entraîne la contraction; seule la méromyosine globulaire est responsable de cette hydrolyse. Rappelons que les cations jouent un rôle essentiel dans le phénomène de contractilité : une excitation d'origine nerveuse se transmet aux cellules musculaires et provoque la *mise en contact* du Ca^{++} venant de l'extérieur avec l'ATP et le complexe d'acto-myosine. La contraction a pu être observée *in vitro* (Szent Györgyi, 1941; Hayashi, 1952; Weber, 1956).

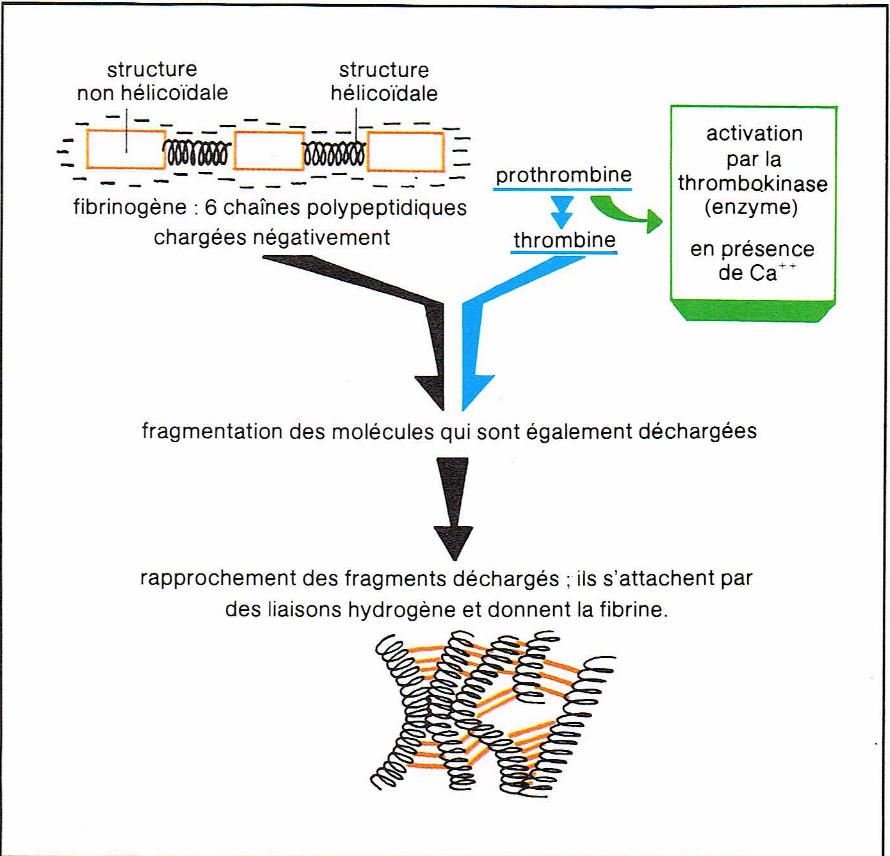
Si on ne connaît pas parfaitement le mécanisme biochimique de la contraction, on a toutefois constaté des faits importants : les fibres d'actine et de myosine sont parallèles et leur disposition est alternée. Dans la cellule musculaire, les deux protéines peuvent réagir entre elles, puisque les fibres sont extrêmement proches les unes des autres. Huxley (1962) estime que la contraction est une liaison momentanée de la méromyosine globulaire et de l'actine ; durant cette réaction, les molécules des deux types glissent l'une par rapport à l'autre.

Protéines insolubles ou peu solubles

— Le *collagène* est la protéine de ce groupe la plus abondante chez les animaux. Il se présente sous forme de fibres bien distinctes au microscope électronique, groupées en faisceaux plus ou moins denses suivant les espèces et l'âge des individus. On en trouve aussi bien chez des Invertébrés très primitifs que chez les Mammifères, où il est souvent abondant. C'est une substance

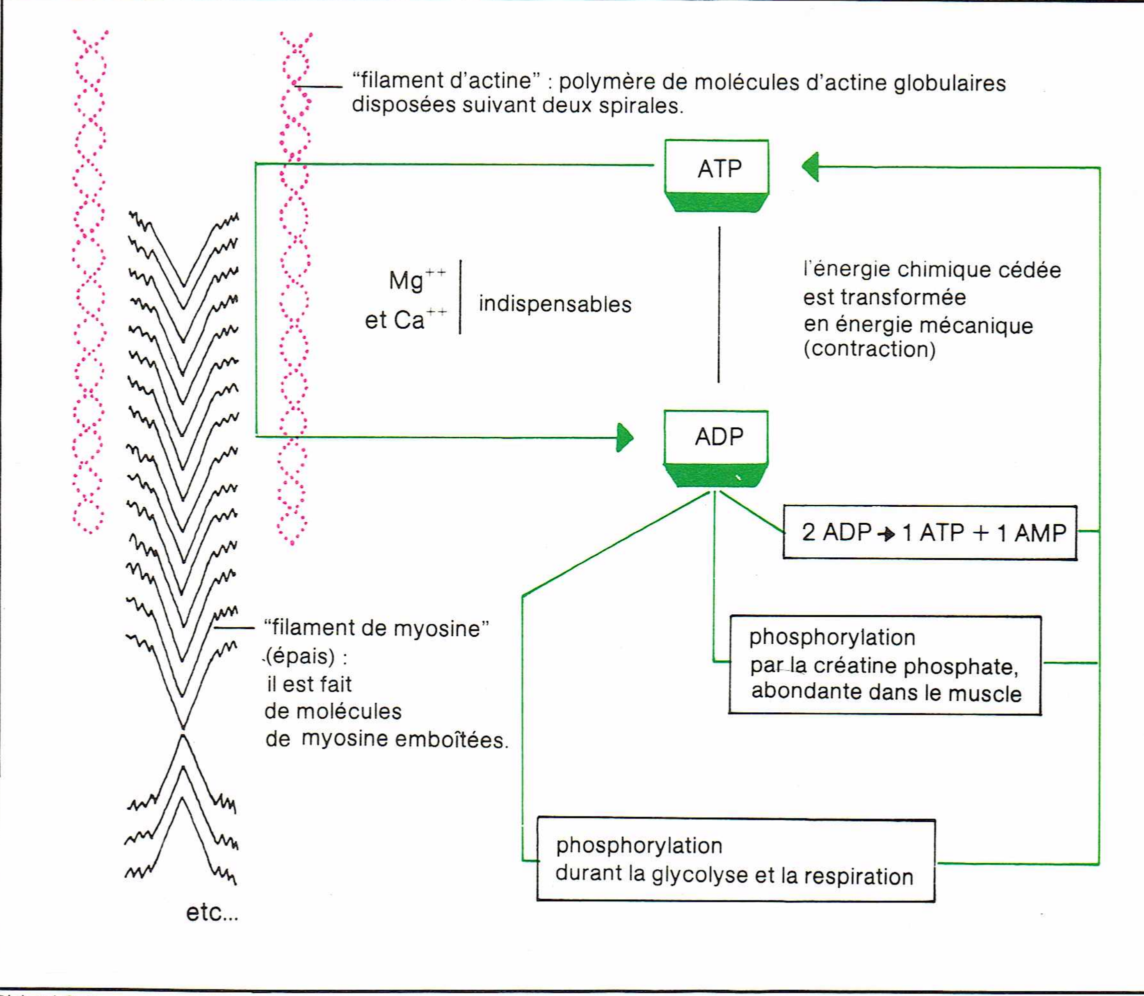


Richard Colin



Richard Colin

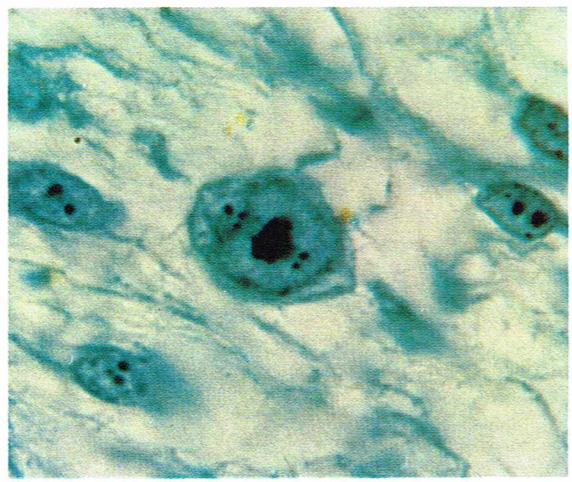
▲ A gauche, formation de fibrine au niveau d'une plaie. A droite, formation de la fibrine à partir du fibrinogène, protéine de base pour la coagulation du sang.



Richard Colin

◄ Structure schématique de l'actine et de la myosine ; principe chimique de la contraction.

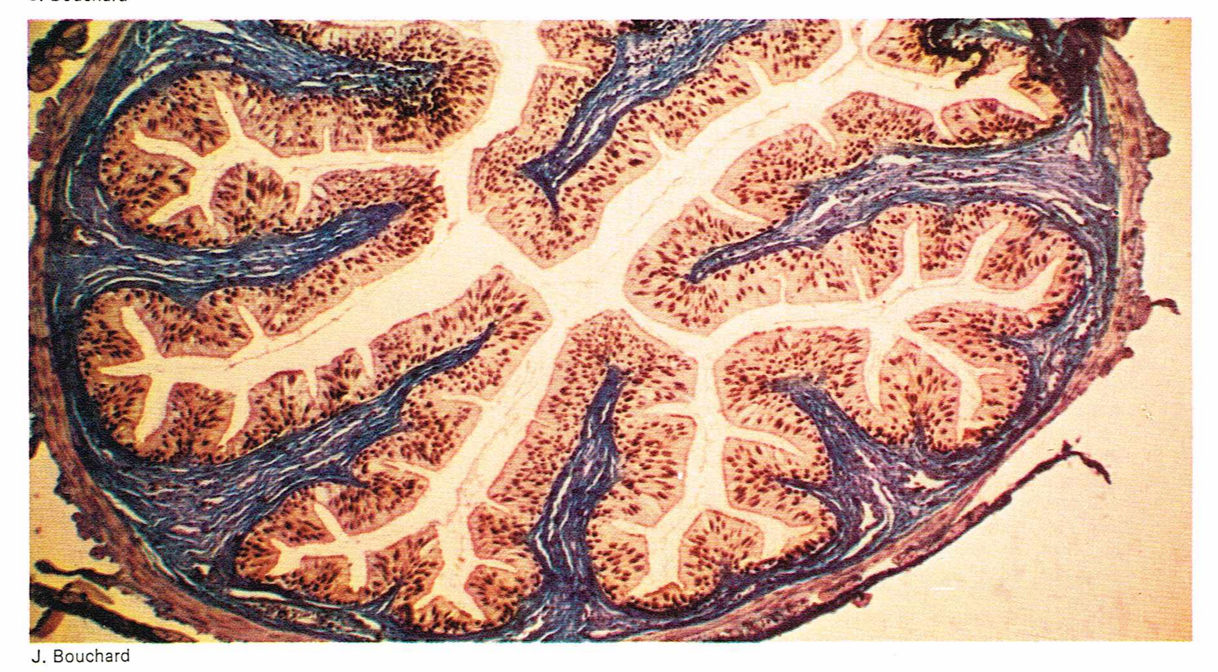
▶ *Apparition des fibres de* **collagène** *dans le* **conjonctif** *lâche d'un* **embryon de poulet** *de 13 jours.*



J. Bouchard

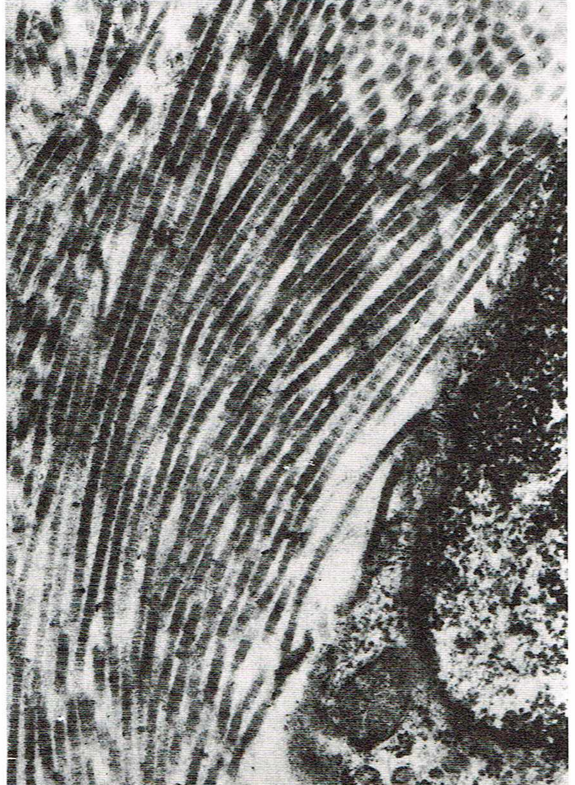
extracellulaire, fabriquée par des cellules nommées *fibrocytes,* qui s'entourent d'un lacis de fibres ; les fibres des cellules voisines se mêlent pour former des réseaux, lesquels sont très facilement observables en microscopie ordinaire. Chez les Mammifères, le collagène constitue l'essentiel des tendons, de la cornée de l'œil et du derme de la peau ; de plus, il est un des constituants du cartilage ou des os et se trouve en abondance dans tout ce que l'on appelle le *tissu conjonctif,* c'est-à-dire le tissu plus ou moins lâche ou plus ou moins dense qui emballe tous les organes. C'est donc une substance d'une extrême importance qui joue un rôle protecteur et un rôle de soutien tout à fait essentiel. Les fibres sont à la fois souples et très résistantes.

Le collagène est soluble dans l'acide acétique dilué. Ainsi, un fragment de peau de souris ou de poulet « gonfle » assez rapidement dans l'acide à 3-5 %, et le derme devient totalement transparent à la température ambiante. Curieusement, si l'on neutralise la solution, le feutrage tend à se reconstituer, ce qui montre que la structure du collagène dépend du pH du milieu.



J. Bouchard

▶ *Abondance du* **collagène** *dans le tube digestif ; ici, coupe transversale d'œsophage de salamandre ; la lumière est limitée par un épithélium très plissé (rose) et qui est doublé par un feutrage de conjonctif dense (bleu) ; l'ensemble est entouré par une couche musculaire mince (mauve).*



P. Castano

▶ *Exemple de* **fibres collagènes** *vues au microscope électronique. Aspect strié caractéristique.*

Une solution acétique de collagène peut être fractionnée par ultracentrifugation. On obtient alors des molécules de *procollagène* et de *tropocollagène.* Le tropocollagène a été particulièrement étudié par Schmitt chez les Poissons. La molécule mesure environ 3 000 Å, et son poids moléculaire est de 350 000.

La structure primaire est très caractéristique : le *glycocolle* y est très abondant et on y trouve, par ailleurs, des acides aminés « rares » (l'*hydroxyproline* et l'*hydroxylysine*).

Le collagène a une structure tertiaire ; 3 polypeptides sont associés dans la molécule ; chacun de ces polypeptides possède une spiralisation secondaire et une spiralisation tertiaire (Kruh).

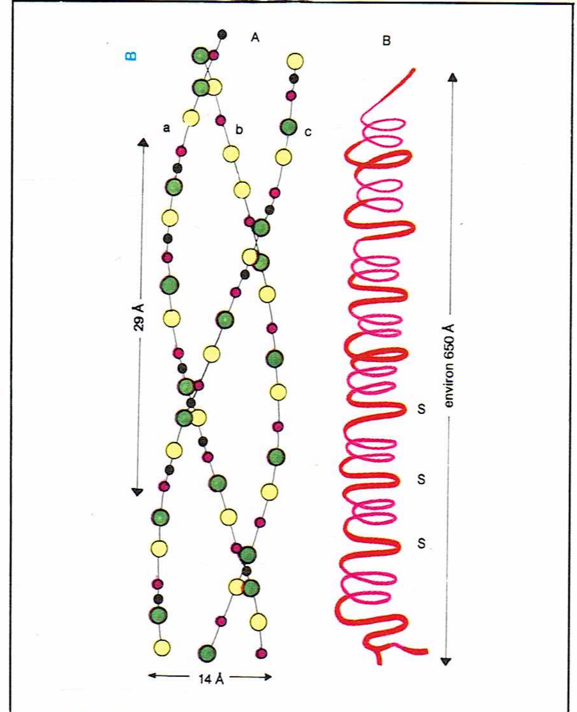
Un certain nombre d'expériences ont permis de mieux comprendre de quelle façon les molécules de collagène se trouvent associées dans les fibres que l'on voit nettement au microscope ordinaire.

La protéine change de structure à partir de 60 °C, et la fibre se raccourcit. Il s'agit là d'un effet que l'on observe pour toutes les protéines fibrillaires. La cuisson du collagène entraîne sa dénaturation et sa dissolution partielle : le bouillon dans lequel on a fait cuire une tête de veau donne, en se refroidissant, une gélatine qui n'est autre qu'un *gel de collagène dénaturé.* Le collagène qui subsiste dans les tissus cuits s'y trouve sous forme partiellement soluble, ce qui donne à la tête de veau sa consistance molle quand elle est encore chaude ; après un séjour au froid, elle prend une consistance de caoutchouc. Donc, le collagène dissous constitue à chaud une solution colloïdale, laquelle se gélifie à froid. Cette gélification est une sorte de floculation stable : les

particules en solution se groupent et forment des *réseaux* dont la structure est fragile puisqu'un léger chauffage suffit à redonner au gel sa structure de sol; il y a une grande quantité d'eau entre les mailles de ces réseaux. L'*ionisation* du milieu par des acides ou des bases favorise le gonflement : l'accroissement de la charge électrique au niveau du réseau de gélatine facilite l'écartement des mailles. Par contre, les *sels neutres*, en empêchant la formation d'une double couche électrique, freinent l'hydratation. Ces quelques faits montrent à quel point la composition ionique du milieu et la charge au niveau des molécules colloïdales sont essentielles. La solution de gélatine obtenue par chauffage est faite de molécules dénaturées de manière *irréversible*.

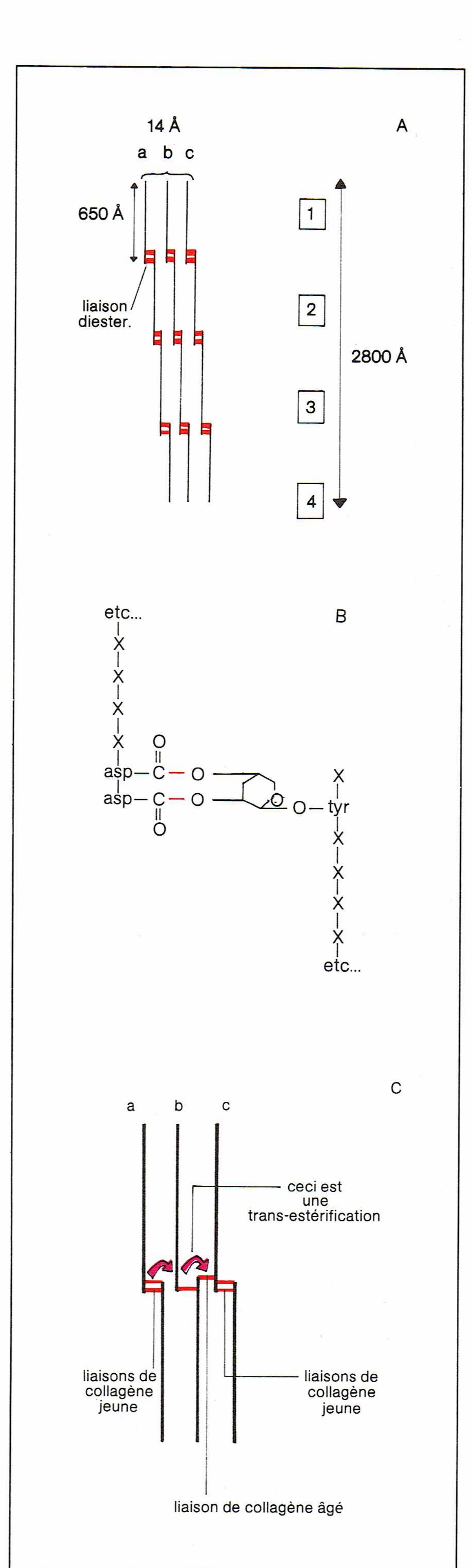
La dénaturation peut être *réversible* si les conditions d'attaque sont différentes. Le collagène peut être extrait par une *solution saline physiologique* à partir des tissus du veau. Ce collagène observé au microscope électronique n'est pas dénaturé. Cette solution de collagène provenant d'un individu jeune (« collagène jeune ») se gélifie si l'on chauffe modérément; là encore, il n'y a pas de dénaturation. Le collagène des adultes n'est pas soluble dans les solutions physiologiques : il faut *acétifier* le milieu pour obtenir une solution colloïdale. C'est pourquoi on peut estimer qu'il existe un plus grand nombre de liaisons intermoléculaires pour le collagène « âgé » que pour le collagène « jeune ». On peut vieillir expérimentalement du collagène « jeune » en le chauffant modérément durant plusieurs heures. Le gel ainsi obtenu ne peut être dissous que dans une solution acétique. Si on prolonge le chauffage, toute dissolution devient impossible. Le résultat est le même si l'on neutralise la solution acide de collagène âgé : on obtient un gel qui résiste à divers traitements physico-chimiques modérés. Ce collagène vieilli, tout comme le collagène âgé, correspond à l'association de molécules de tropocollagène, molécules disposées parallèlement et liées par des ponts d'autant plus nombreux que le collagène est plus âgé. Les molécules se présentent en rangées longitudinales dont chaque élément est décalé par rapport aux rangées parallèles voisines.

Quel est le mode de liaison des molécules de collagène natif? Il s'agit de *liaisons diester*. Initialement, dans le collagène « jeune » — dont les molécules libres sont faites de 3 chaînes — les liaisons ester groupées 2 par 2 servent à rapprocher l'acide aspartique d'un polypeptide et le polypeptide suivant, ou précédent, *de la même chaîne* : il y a estérification entre un radical COOH de l'acide aspartique et un radical alcool secondaire d'un sucre en C_6 accroché sur le second polypeptide.



Richard Colin

◀ *A gauche, A,* **structure du tropocollagène** *formé de trois filaments polypeptidiques : en vert,* **l'hydroxyproline;** *en jaune, la* **proline;** *en rose, le* **glycocolle** *(ces 3 acides aminés ne contractent pas de liaisons hydrogène);* *en noir, x ou nx acides aminés (liaisons hydrogène possibles). Séquence oligopeptidique de la chaîne a ou c; x-gly-pro-hypro-gly-x; la chaîne* **b** *(où les x n'ont pas été figurés) est différente des deux autres. A droite, B,* **super-structure hélicoïdale** *de chaînes polypeptidiques; les portions de filaments (S) qui apparaissent en sombre au microscope électronique ont une structure moins régulière que les filaments du schéma A.*



Richard Colin

◀ *A droite, de haut en bas, A, mode d'association des* **filaments du tropocollagène;** *3 chaînes, chacune comprenant, ici, quatre polypeptides (1-2-3-4). B, détail d'une* **liaison diester;** *deux liaisons ester sont figurées en rouge. C,* **transestérification** *entre les protofibrilles* **du collagène âgé.**

Les liaisons diester concourent à donner à chacune des trois chaînes polypeptidiques une structure nettement fibrillaire, puisque les polypeptides de chaque chaîne sont faits de peptides courts et qui sont liés bout à bout; les liaisons diester n'assurent aucunement la cohésion des 3 chaînes de la molécule, mais seulement celle des polypeptides de chacune des chaînes.

Lorsque le collagène vieillit, les liaisons ester se déplacent : certains des ponts qui assuraient la structure fibrillaire vont alors servir à relier deux chaînes voisines d'une molécule (transestérification). La structure fibrillaire va persister, mais la liaison des trois polypeptides va devenir plus stable. Ensuite, des liaisons vont pouvoir s'établir entre les chaînes voisines de deux molécules ou de *n* molécules disposées côte à côte ou bout à bout. On aura donc une grande cohésion des molécules de collagène « âgé », ce qui explique que la solubilité devienne plus faible.

La sécrétion de molécules de tropocollagène a été mise en évidence lors d'observations faites durant la cicatrisation de plaies cutanées; il se forme, à la surface des fibrocytes, des extrusions, sortes de bulles très réfringentes au microscope optique et qui constituent autant de vésicules d'expulsion du tropocollagène (Stearns et travaux biochimiques de Gross, Lapière et Tanzer).

Dans certains cas pathologiques, la structure des molécules de collagène est anormale; c'est ce qu'on appelle les « maladies du collagène », qui sont sérieuses. Nous verrons l'importance des anomalies de formation du collagène lors de la production expérimentale de tumeurs épithéliales; chez l'animal normal, il existe un équilibre de croissance de l'épithélium (épiderme) et du tissu d'emballage collagène; cet équilibre est rompu dans le cas des tumeurs épithéliales, et le collagène ne forme plus un support ni une barrière efficace contre l'invasion tumorale.

Outre le collagène, on trouve dans les tissus conjonctifs d'autres types de protéines fibreuses : la réticuline et l'élastine.

— Les fibres de *réticuline* sont mêlées aux fibres de collagène; elles sont particulièrement denses à la limite de l'épithélium et du tissu conjonctif. Leur structure est aussi complexe que celle du collagène, mais elles sont plus petites. La réticuline est une glycoprotéine très riche en glucides divers. Montagna estime que cette fibre a la même origine que le collagène. Il précise que le derme de l'embryon ne comporte que des fibres de réticuline et considère, avec Gross, que le précollagène, formé de molécules non encore liées, mais seulement groupées, constitue le matériau de base pour la synthèse des deux types de fibres. En 1934, Bensley avait déjà constaté, grâce à la technique de diffraction des rayons X (pourtant encore peu perfectionnée dans le domaine de la biologie), que les fibres embryonnaires donnent un spectre peu différent de celui du collagène.

Il existe des anomalies de formation de la réticuline. En particulier lors de la croissance de tumeurs épidermiques, les fibres de réticuline ne forment plus un feutrage dense sous l'épiderme.

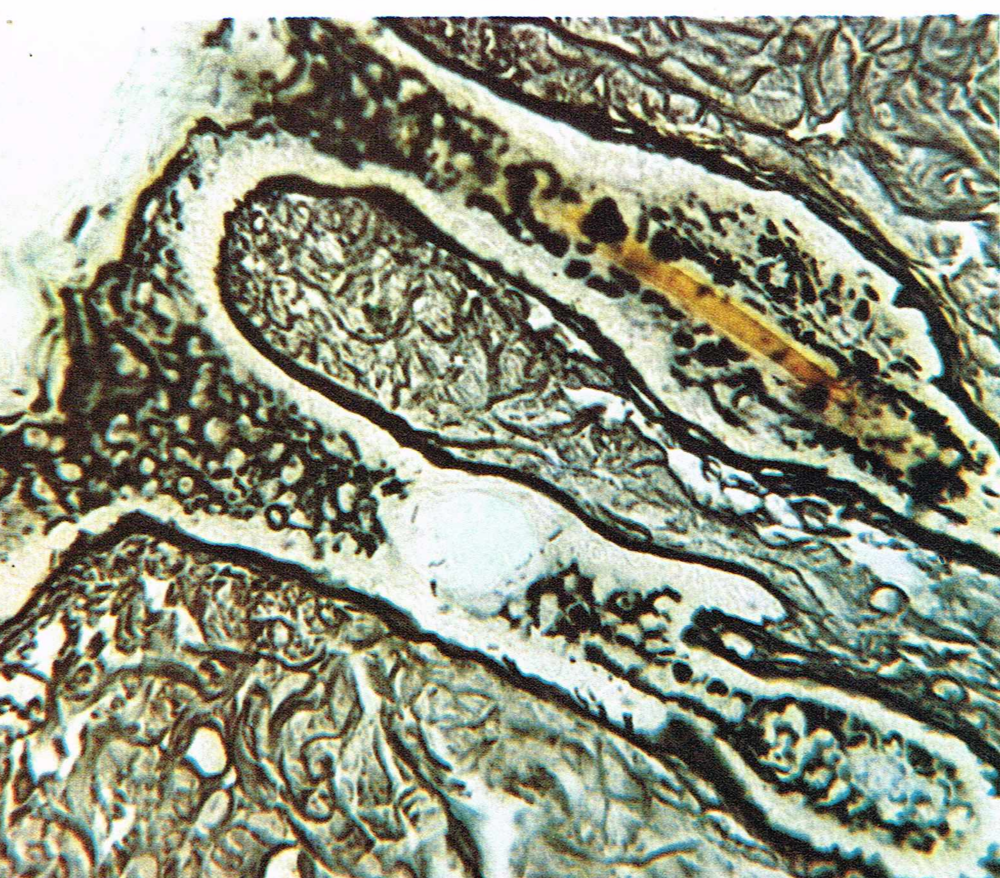
— Les *fibres élastiques* et l'*élastine* sont repérables sur les coupes histologiques, grâce à leur forte réfringence et à leur colorabilité particulière. Ces fibres sont abondantes dans le derme des Vertébrés; chez les Mammifères elles forment une gaine autour des follicules pileux; il existe une gaine de même nature autour des glandes et dans la paroi des vaisseaux artériels qui sont soumis à des variations importantes de pression lors des contractions cardiaques. Par ailleurs, les disques intervertébraux sont des coussins de tissu conjonctif chargé de fibres élastiques.

L'élastine est formée de protéines de type albumine et de protéines fibreuses extrêmement résistantes vis-à-vis des agents chimiques : des *scléroprotéines*. La structure précise de l'élastine est mal connue.

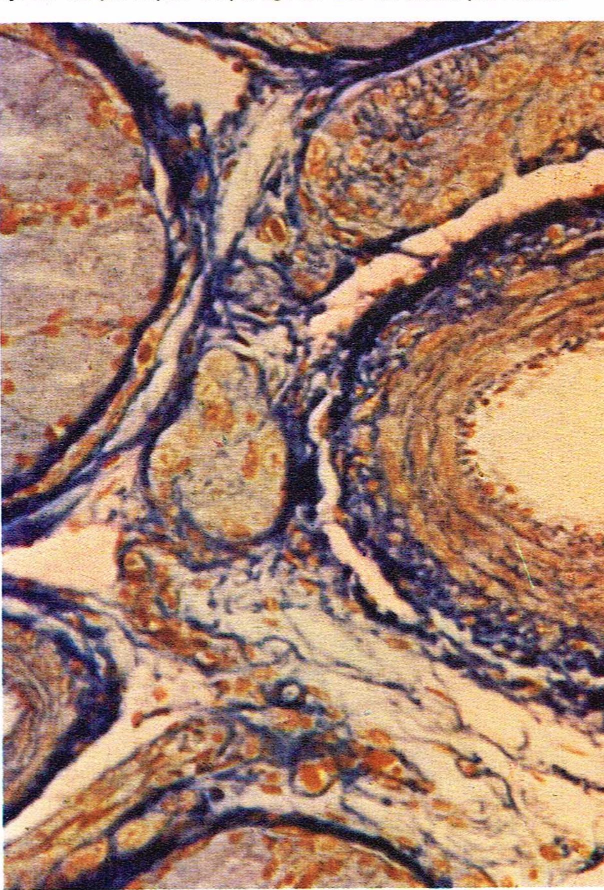
— La *kératine* forme la couche protectrice cornée qui recouvre la peau des Mammifères, des Oiseaux et des Reptiles; les poils, les ongles, les sabots, les cornes, les plumes et les écailles (sauf celles des Poissons) sont constitués de kératine.

C'est une scléroprotéine contenant en abondance des *acides aminés soufrés*. Des ponts disulfure lui donnent une grande solidité. On distingue deux types de kératines, dont l'une est insoluble dans un mélange (pourtant vigoureux) d'acides nitrique et sulfurique auquel on ajoute du peroxyde d'hydrogène. Les kératines provenant

▼ A gauche, mise en évidence des fibres de réticuline dans une coupe de peau de souris; on voit ici deux follicules pileux reliés à l'épiderme (à gauche). L'imprégnation par un sel d'argent montre nettement la couche de réticuline qui double entièrement la face interne de l'épiderme et des follicules. Le derme, essentiellement collagène, contient peu de fibres argentophiles (méthode de Gordon et Sweet).



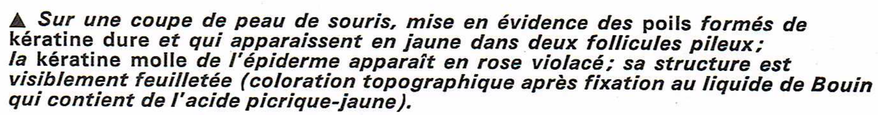

J. Bouchard


R. Bauchot

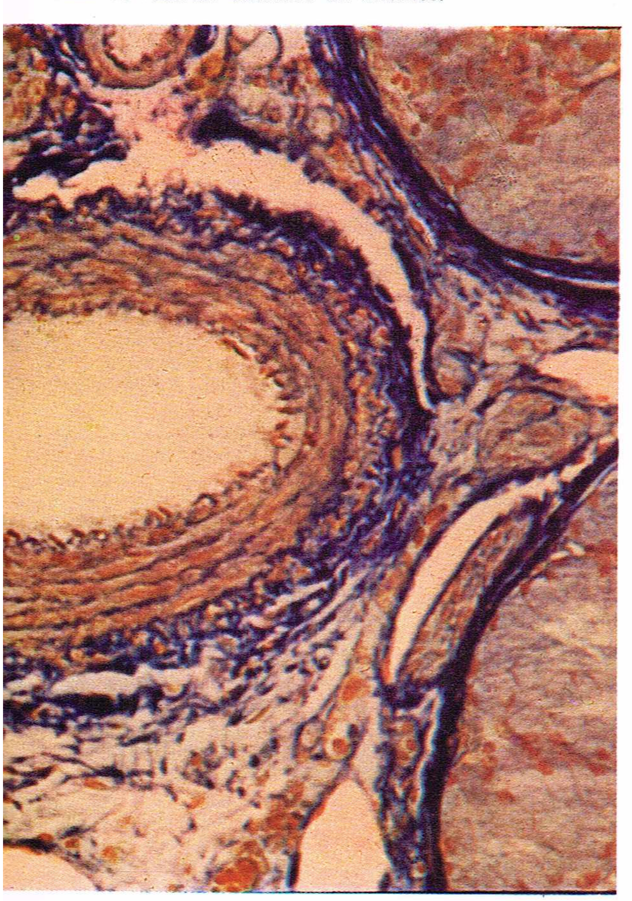
J. Bouchard

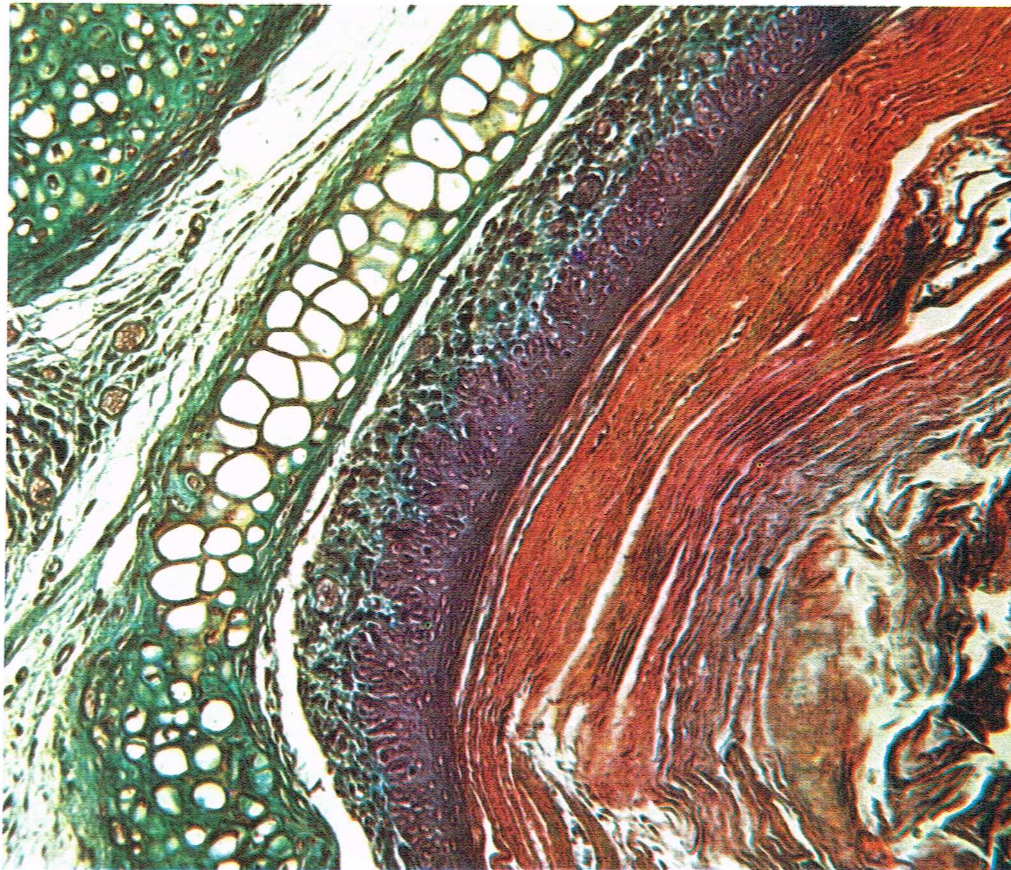
des différents types de phanères ou de la couche cornée sont nettement biréfringentes et donnent, à l'analyse aux rayons X, des diagrammes assez voisins. On retrouve la même périodicité de 5,15 Å pour les fibrilles de prékératine, que l'on observe dans toutes les cellules épidermiques, même les plus jeunes; ces fibrilles constituent les *tonofibrilles,* structures de soutien de ces cellules.

La formation de la kératine molle de l'épiderme est un phénomène continu qui s'effectue à la même vitesse que la multiplication des cellules de l'épiderme : il y a un renouvellement constant de la couche cornée. L'évolution des cellules épidermiques vivantes se fait toujours dans le sens de la kératinisation; cela implique la mort des cellules qui se chargent de tonofibrilles puis de kératine dense. Ce phénomène dépend d'une multitude de facteurs externes ou internes.


▲ Sur une coupe de peau de souris, mise en évidence des poils formés de kératine dure et qui apparaissent en jaune dans deux follicules pileux; la kératine molle de l'épiderme apparaît en rose violacé; sa structure est visiblement feuilletée (coloration topographique après fixation au liquide de Bouin qui contient de l'acide picrique-jaune).

▼ A gauche, coupe d'artère. Voir les fibres musculaires lisses (en rose) et les éléments fibreux conjonctifs (en bleu); à la périphérie, le collagène forme un manchon assez dense; au sein de la gaine musculaire on voit quatre couches concentriques de fibres élastiques (coloration Azan).
A droite, coloration topographique d'une coupe d'oreille de souris; à la base du conduit auditif externe, l'épiderme élabore un très grand nombre de cellules cornées, ou kératinisées, qui s'accumulent avant de desquamer. L'épiderme apparaît ici en rose violacé; la kératine, en rose franc, est feuilletée; sous le derme, très dense (gris verdâtre), on voit des éléments du cartilage (aspect très spécial; coloré en vert).





J. Bouchard

Notions sur les protéines à rôle biocatalytique : les enzymes

Nous avons étudié un certain nombre de *protéines de structure,* plus particulièrement celles dont la conformation et les fonctions sont les plus significatives. Nous abordons maintenant un autre type de protéines : les *enzymes*.

Les enzymes ne peuvent être classées en fonction de leurs caractères morphologiques ou structuraux, qui sont extrêmement variés, mais selon des propriétés communes que nous analyserons un peu plus loin.

La découverte des phénomènes de catalyse

En 1806, Clément et Desormes constatèrent que l'hydrolyse du saccharose était accélérée par des traces d'acides minéraux. Ensuite, en 1817 et en 1831, Davy puis Phillips montrèrent l'influence de petites quantités de platine sur le déroulement de réactions en chimie minérale. C'est à Berzélius (1845) que l'on doit la notion de *phénomène catalytique;* dans ce processus, une substance qui n'a aucun rapport avec la réaction chimique étudiée joue cependant un rôle déterminant. Ostwald donne la définition suivante d'un *catalyseur :* c'est une matière qui, sans apparaître dans le produit final d'une réaction, modifie cependant la vitesse de cette réaction. Ajoutons quelques précisions importantes. La composition chimique du catalyseur n'est pas modifiée, même s'il subit des transformations intermédiaires; celles-ci sont en effet *transitoires*. Le catalyseur agit en quantités très faibles par rapport aux substances de la réaction. Lorsqu'un *équilibre de réaction* est obtenu, le catalyseur ne le modifie pas.

Les *enzymes* sont les catalyseurs biologiques. Les pionniers de l'étude de ces protéines furent Croft Hill à la fin du XIX[e] siècle et Bourquelot à partir de 1913.

Les problèmes posés par la catalyse

Notions essentielles de thermodynamique et notion de couplage

Les réactions biochimiques, chimiques ou simplement mécaniques suivent les lois de la thermodynamique.

— *L'énergie potentielle* d'un système peut servir à fournir un *travail;* mais dans ce cas, il y a toujours *perte* d'une partie de cette énergie. Ainsi, un corps qui glisse sur un plan incliné fournit un travail W, mais il y a toujours un frottement, donc un gaspillage d'énergie potentielle. Le travail, ou *énergie libre,* est égal à l'énergie potentielle moins l'énergie perdue. C'est parce que tout système perd de l'énergie en fonctionnant qu'il est impossible de le faire fonctionner au même degré en sens inverse si on ne lui fournit pas un surcroît d'énergie.

— L'énergie libre (F) d'un système est égale à l'énergie totale potentielle, ou *enthalpie* (H), diminuée d'une valeur proportionnelle à l'énergie inutilisable, ou *entropie* (S). $F = H - TS$ (T étant la température à laquelle fonctionne le système). Cependant, la *valeur absolue* de l'énergie potentielle ne peut pas être connue; on en détermine seulement des *variations.* C'est pourquoi on doit écrire :

$$\Delta F = \Delta H - T\Delta S$$

Comme on le voit, seule T est une valeur absolue déterminable. Une modification *spontanée* d'un système ne peut se produire que s'il y a diminution de l'énergie libre.

A noter que l'équation ci-dessus est souvent écrite sous la forme : $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ (G étant l'initiale du physicien américain Gibbs, qui fut un des pionniers de la thermodynamique moderne).

Les réactions chimiques impliquent des variations caloriques plus ou moins importantes. La chaleur de réaction est comptée positivement quand elle est cédée au milieu; au contraire, elle est comptée négativement s'il faut fournir de la chaleur pour que la réaction se fasse (réaction non spontanée). Si l'on doit fournir de la chaleur pour qu'une réaction se déclenche, celle-ci est dite *endothermique,* et cela implique une augmentation de l'énergie totale; ΔH est donc positive. Inversement, si une réaction se fait spontanément, elle est *exothermique,* et ΔH est négative (il y a production de chaleur). Les variations d'énergie concernent à la fois l'énergie libre F et l'entropie S.

Une réaction spontanée est dite *exergonique,* alors qu'une réaction qui implique une augmentation d'énergie libre F est dite *endergonique*.

En biologie, il est fréquent que se trouvent *couplées* deux réactions qui sont, en quelque sorte, complémentaires sur le plan thermodynamique : une réaction exergonique peut fournir son énergie pour que se produise une réaction endergonique. Dans ce cas, l'énergie libre produite par la réaction exergonique doit être un peu supérieure aux besoins de l'autre; c'est-à-dire, comme le notent Florkin et Schoffeniels, « il faut que la réaction totale soit exergonique ».

Notion d'activation d'une réaction

En principe, lorsqu'une réaction est exergonique, elle est possible du point de vue thermodynamique, et l'on pourrait s'attendre qu'elle se déclenchât. Pourtant, cette condition nécessaire est loin d'être suffisante; ainsi, la nitroglycérine ou l'essence possèdent un ΔF d'oxydation nettement négatif, et, pourtant, leur combustion ne se déclenche pas spontanément (ce qui est heureux...) ; dans le premier cas, un choc peut être suffisant pour provoquer l'oxydation explosive, dans le second, il faut une étincelle. Cet *appoint* d'énergie correspond à *l'énergie d'activation* (Arrhenius).

Cela s'explique par le fait que l'énergie totale d'une molécule n'est pas intégralement utilisable pour une réaction. Au niveau moléculaire, on sait qu'il existe plusieurs formes d'énergie — translation moléculaire, énergie électronique, de rotation et de vibration. Seule l'énergie de vibration détermine les possibilités de réaction. Elle correspond aux vibrations effectuées par les atomes de part et d'autre de leur position d' « équilibre » dans la molécule (Amiel) ; elle est quantifiable.

L'activation donne le « coup de pouce » qui permet la réaction exergonique entre deux espèces moléculaires; l'énergie d'activation qui doit être fournie est d'autant plus grande que l'énergie de vibration des molécules est plus faible par rapport au contenu énergétique total de celles-ci.

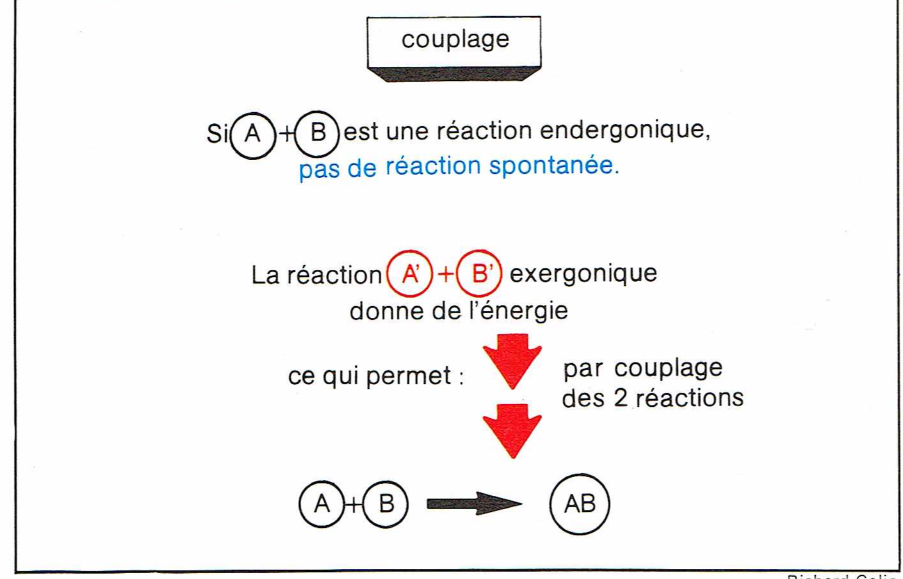
Soit deux espèces moléculaires A et B dont la réaction exergonique implique un ΔF négatif. La réaction n'aura lieu que si l'on ajoute un facteur C qui apporte une énergie d'activation E :

$$A + B \text{ non réagissants}$$
$$\text{mais } A + B + C \rightarrow AB + C$$

Divers facteurs permettent l'activation. Par exemple, une élévation de 10 °C multiplie par 2 ou 3 le nombre de molécules activées dans une solution de saccharose à hydrolyser; le phénomène est important au niveau cellulaire sauf chez les homéothermes (Oiseaux et Mammifères). Divers ions sont d'excellents activateurs permettant les réactions au niveau de la cellule.

Le rôle du catalyseur

Un catalyseur, plus particulièrement une enzyme, agit en *abaissant l'énergie d'activation* nécessaire pour qu'une réaction soit possible — réaction exergonique simple ou rendue exergonique par couplage.



▼ *Représentation schématique de la notion de couplage.*

Richard Colin

Conditions d'activité d'un catalyseur

Les catalyseurs que l'on utilise en chimie sont de nature diverse; ils peuvent être « physiques » (comme les corps poreux) ou chimiques. Les catalyseurs biologiques, ou enzymes, ont une activité purement chimique.

L'enzyme se lie temporairement au substrat

L'enzyme, catalyseur chimique, se fixe sur le substrat, c'est-à-dire sur le matériel de la réaction (V. Henri) :

$$S + E \leftrightarrows ES \rightarrow \text{Produit} + E$$

L'enzyme se trouve régénérée à la fin de la réaction. Insistons sur le fait que le premier temps est réversible et que la vitesse des réactions dépend de constantes, toutes différentes :

$$[E] + [S] \underset{Kb}{\overset{Ka}{\leftrightarrows}} [ES] \overset{Kc}{\rightarrow} [P] + [E]$$

Cette liaison enzyme-substrat peut être mise en évidence dans certains cas favorables, par exemple, dans la réduction de H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène) par le pyrogallol en présence de *peroxydase*. La peroxydase est une enzyme de coloration brune; durant la réaction l'enzyme vire au vert puis au rouge. La transformation transitoire de l'enzyme a été étudiée en spectrophotométrie; fournissant initialement quatre pics, elle passe par un état transitoire à deux pics avant de retrouver ses caractéristiques.

L'activité dépend de la température

La vitesse de réaction est maximale pour une température précise; il existe donc un *optimum de température.* Pour une température donnée, on peut effectuer une *série de dosages* du substrat (S) et du produit formé (P) en fonction du temps (t) : $V = \frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt}$. La courbe des vitesses en fonction de la température est une courbe en cloche : la protéine enzymatique *se dénature* assez brutalement entre 40 et 60 °C.

L'activité dépend du pH

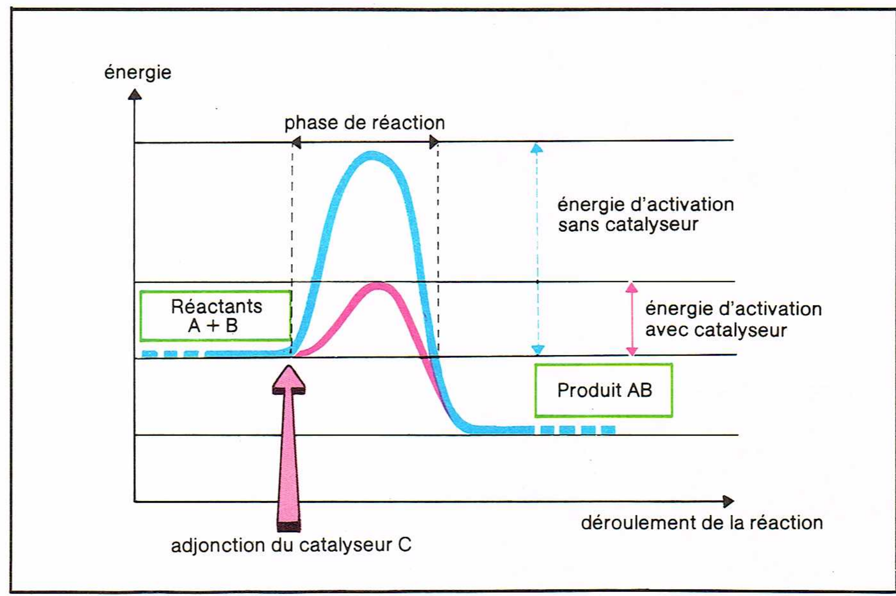
Il existe un pH optimal pour toutes les réactions enzymatiques. En deçà et au-delà des limites de cet optimum, l'enzyme se dénature; de plus, l'ionisation du substrat varie avec le pH ambiant et, même si l'enzyme n'est pas encore inactivée, le substrat devient plus difficile à atteindre pour l'enzyme.

On connaît l'exemple de la *pepsine* gastrique, enzyme qui fragmente les protéines en s'attaquant aux acides aminés comportant un noyau aromatique au voisinage de la liaison peptidique (tyrosine ou phénylalanine). Les premiers expérimentateurs, au temps de Spallanzani ou de Réaumur, connaissaient l'action protéolytique du suc gastrique. Mais il fallut attendre Eberlé, Müller et Schwann pour savoir que ce suc acide était plus actif qu'une solution de HCl au même pH. La pepsine n'est efficace qu'en milieu acide. En 1881, Langley effectua une étude précise de l'influence du pH. Dès 1880, Heidenhain suggéra que l'*enzyme active* était une combinaison de HCl et d'une propepsine, ou pepsinogène. Cependant, c'est seulement en 1938 que l'on put isoler le pepsinogène et le cristalliser. Cette enzyme devient la pepsine à pH 6, mais son optimum est beaucoup plus bas; ainsi, elle digère l'hémoglobine à pH 0,2; *l'optimum varie avec la nature du substrat;* pour beaucoup de protéines le pH optimal de la pepsine est au voisinage de 4. En fait, les propriétés du suc gastrique ne sont bien connues que depuis les travaux de Bergmann et Fruton (1941), complétés par ceux de Hirschowitz (1957).

Structure et fonctionnement des enzymes

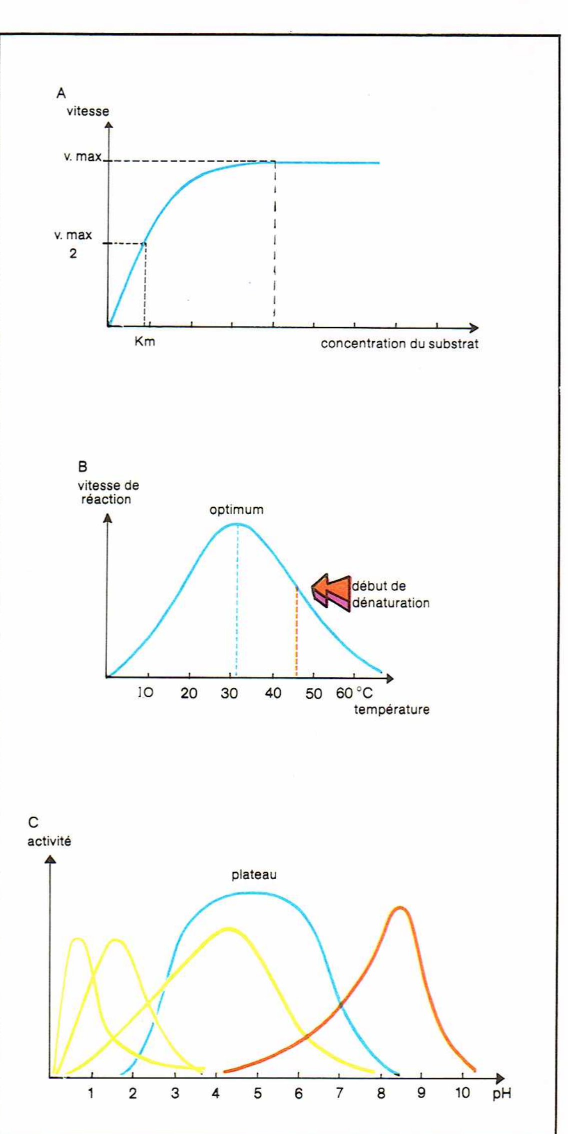
On classe les enzymes suivant la nature des réactions qu'elles catalysent. La description précise d'un tel classement serait, ici, très fastidieuse. Nous tenterons de donner une idée de la nature des enzymes en décrivant la structure et le fonctionnement de certaines d'entre elles, que les spécialistes commencent à bien connaître.

La nature protéique des enzymes est établie depuis 1922. Avant Wilstätter, on pensait que les « ferments » biologiques étaient d'une nature particulière et que les protéines qui leur étaient associées correspondaient à des impuretés; on mettait donc sur le compte de l'extraction les réactions protéiques produites par les enzymes que l'on tentait d'analyser. Les enzymes sont cristallisables (Summer, 1926; de nombreux travaux de Northrop). Certaines de ces enzymes sont *purement protéiques.* Mais d'autres, fort nombreuses, comportent des *portions non protéiques* et de nature variée; dans ces derniers cas, la protéine enzymatique représente *l'apoenzyme,* et la molécule complémentaire correspond au *coenzyme,* ou *coferment.*



Richard Colin

▲ *Le rôle du catalyseur : il abaisse l'énergie nécessaire à l'activation d'une réaction.*



Richard Colin

◀ *De haut en bas : A, variation de la vitesse d'une réaction enzymatique en fonction de la quantité de substrat; cette réaction est caractérisée par la vitesse maximale et une constante dite constante de Michaelis (Km). B, influence de la température sur la vitesse d'une réaction enzymatique. C, influence du pH sur l'activité des enzymes : en bleu, enzyme à optimum mal définissable, mais très active entre pH 3 et 6 (invertase); en rouge, enzyme à optimum très net situé entre pH 8 et 9 (trypsine du pancréas); en vert, enzyme à optimum variable suivant la nature du substrat (pepsine de l'estomac).*

▶ *Exemple de larves d'Insectes à régime alimentaire xylophage : larves de* **Rhagium** *(Coléoptères Longicornes) se nourrissant au niveau des couches externes du bois de Conifères, qu'elles digèrent partiellement grâce aux hydrolases contenues dans leur tube digestif.*

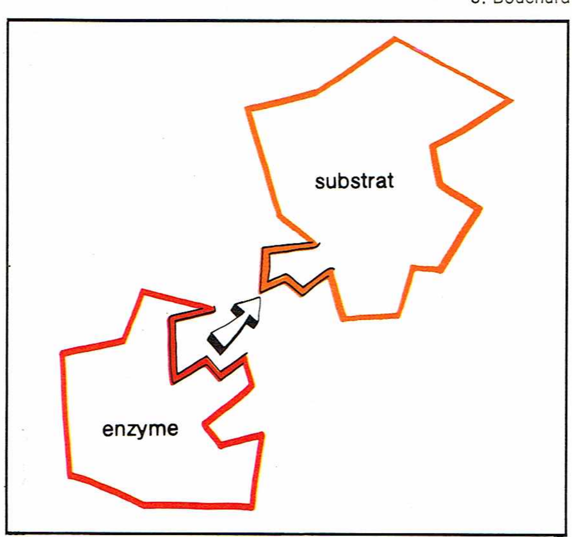


J. Bouchard

▶ *A gauche, un représentant de la famille des Dermestidés* **(Anthrenus museorum).** *Les larves de certaines espèces de cette famille de Coléoptères se nourrissent des exuvies abandonnées après la mue par d'autres Insectes; l'équipement enzymatique de leur tube digestif est donc très particulier puisque le fond de la nourriture est essentiellement constitué par la chitine.* **A droite,** adaptation **enzyme-substrat** *: la configuration stérique du substrat permet l'action de l'enzyme.*



G. Blondeau - Pitch



Richard Colin

▼ *Représentation schématique du* **degré de spécificité** *des enzymes.*

substrats lipidiques variés
P
lipase
spécificité
de groupe
aucune action
protéase
spécifique
d'un acide
aminé
polypeptide
R_1 H O R_3 H NH_2
COOH O R_2 H O R_4
aucune action

Richard Colin

Enzymes purement protéiques

Relativement peu nombreuses, ces protéines permettent généralement des réactions d'*hydrolyse :* ce sont des *hydrolases*. Dans le tube digestif, elles fragmentent les macromolécules qui servent à l'alimentation. Il en existe beaucoup d'autres au sein des cellules les plus diverses; celles-là sont utilisées dans certaines réactions de dégradation et, tout particulièrement, à la fin de la vie cellulaire quand se déclenchent les processus d'autolyse aseptique. On distingue les *hydrolases des glucides,* les *lipases* et les *protéases;* chacun de ces groupes est fait de sous-groupes correspondant à des enzymes de *spécificité* différente.

Si la spécificité enzyme-substrat n'est pas très grande, dans le cas des lipases, par exemple, on parle d'enzymes ayant une *spécificité de groupe,* l'enzyme pouvant s'attaquer à des lipides variés. Dans le cas des protéases, on constate que la fixation d'eau sur la molécule de substrat se fait à un niveau déterminé : certaines opèrent sur les liaisons peptidiques et l'enzyme « choisit » une liaison peptidique particulière; ce choix est fonction de la configuration mutuelle de l'enzyme et du substrat. On dit que le niveau de réaction avec le substrat est déterminé par la *configuration stérique* de la molécule au voisinage du point d'hydrolyse; cette notion s'applique à toutes les enzymes possédant une spécificité précise.

Le mécanisme d'action des hydrolases est encore incomplètement connu. Barnard et Laidlaw l'expliquent par le caractère bifonctionnel de la protéine enzymatique : $—NH_3^+$ peut céder un proton au substrat et $—COO^-$ peut en récupérer un autre. Autrement dit, l'enzyme se comporte comme un *conducteur d'électrons.* Cette protéine semi-conductrice serait parcourue par les électrons pi délocalisables, électrons d'un pool macromoléculaire (Florkin et Schoffeniels). Ainsi, l'étude des propriétés électriques de certains acides aminés constitutifs de protéines tend à prouver qu'il existe des *sites actifs* particuliers dont dépend le pouvoir catalytique.

Quelques hydrolases particulièrement importantes

— *La trypsine*. D'origine pancréatique, elle hydrolyse les protéines en s'attaquant très spécifiquement aux liaisons peptidiques situées juste à côté de l'arginine et de la lysine contenues dans les chaînes. L'enzyme ne reconnaît pas une certaine liaison peptidique, mais bien plutôt l'*encombrement stérique* des deux acides aminés cités; remarquons que la structure générale de ces derniers est très voisine.

— *La chymotrypsine*. Également d'origine pancréatique, sa spécificité diffère de celle de la trypsine; par contre, son mode d'action fait penser à celui de la pepsine gastrique : comme celle-ci, la chymotrypsine s'attaque à des liaisons peptidiques au voisinage d'un acide aminé aromatique du substrat protéique, par exemple, la tyrosine ou la phénylalanine. Cependant, alors que la pepsine n'agit que sur des liaisons peptidiques d'acides aminés ionisés (NH_3^+, COO^- libres), la chymotrypsine « se contente » de la présence du seul acide aromatique. Son action est donc plus générale.

Cette enzyme est très utilisée par les biochimistes pour fragmenter les chaînes protéiques en des points précis et déterminer ensuite les résidus C-terminaux des polypeptides libérés; ils obtiennent ainsi de nombreux points de repère pour l'analyse des macromolécules complexes.

Comme beaucoup d'enzymes, la chymotrypsine est issue d'un zymogène, le chymotrypsinogène, protéine de 246 acides aminés. Pour aboutir à la chymotrypsine il faut une réaction enzymatique préalable qui, en éliminant un court segment du chymotrypsinogène, permet l'établissement de la structure secondo-tertiaire dont dépend le fonctionnement de l'enzyme active.

Trypsine et chymotrypsine sont des *endopeptidases* qui s'attaquent à des points précis disposés tout au long des chaînes polypeptidiques de substrat.

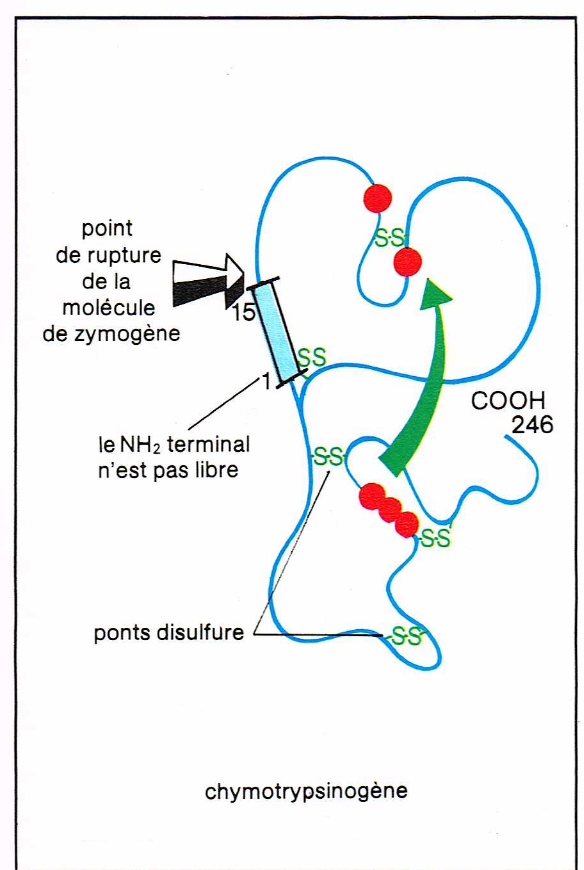
— *La ribonucléase*. Elle fournit un autre exemple d'enzyme purement protéique. Elle catalyse la fragmentation des molécules d'acide ribonucléique (ARN). L'hydrolyse se produit en des points très précis des très longues chaînes d'ARN.

La constitution de cette enzyme est assez bien connue depuis les travaux de Stein et Moore (1960). Il s'agit d'une seule chaîne de 124 A. A., chaîne pelotonnée car il existe des liaisons disulfure qui, établies à des niveaux précis, déterminent la structure tertiaire de la chaîne.

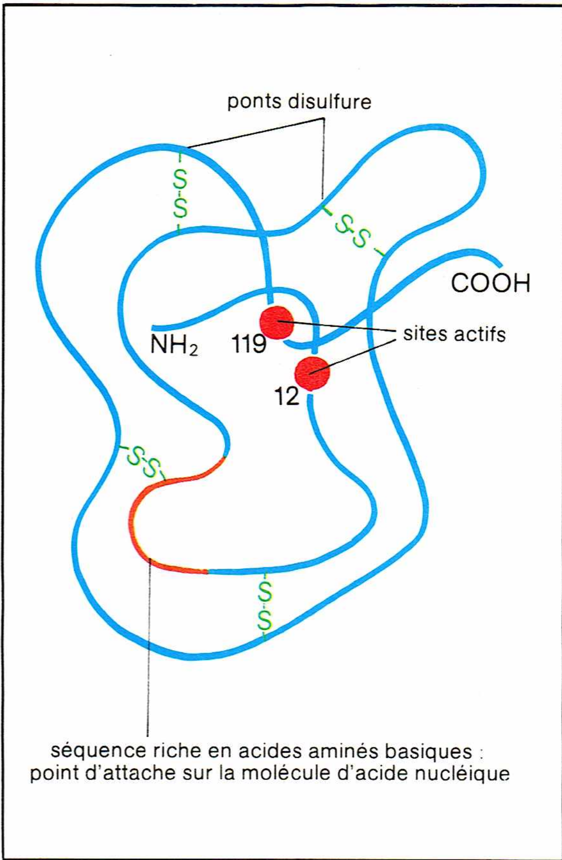
On peut détruire complètement l'activité de la ribonucléase en lui adjoignant de l'acide iodo-acétique. Cet acide se lie avec l'histidine en position 119, et il suffit donc d'une très faible modification de la molécule pour l'inactiver. D'autre part, la rupture de la chaîne au niveau 20-21 et l'élimination du bout de cette chaîne entraînent aussi la perte d'activité de l'enzyme; cette extrémité 1-20 occupe dans la ribonucléase native une position voisine de l'autre extrémité, en particulier de l'histidine 119. Enfin, les acides aminés 121 et 124 jouent un rôle extrêmement important. On considère que deux acides aminés sont directement responsables de l'efficacité de l'enzyme : l'HIS 119 et l'HIS 12, qui se trouvent très près l'un de l'autre, comme le montre un schéma de structure tertiaire. Le *site actif*, c'est-à-dire l'ensemble des acides aminés qui sont responsables du contact avec le substrat, se trouve donc localisé autour de ces deux histidines. Mais il comprend deux zones à fonction différente : un *site de fixation* enzyme-substrat et un *site catalytique* de réaction. Le site catalytique correspond au niveau des histidines déjà citées, tandis que le site de fixation est fait d'une portion de la chaîne comportant une série d'acides aminés basiques : ceux-ci s'attachent donc facilement aux radicaux acides libres des ARN.

Comme nous l'avons dit, la notion de site actif est valable pour les autres enzymes, et l'on connaît à présent la nature des sites de beaucoup d'entre elles. Généralement, chaque site correspond à un petit nombre d'acides aminés actifs.

Nous avons également vu que l'acide iodo-acétique se fixe spécifiquement sur l'histidine 119 de la ribonucléase; il s'agit toutefois là d'un fait très exceptionnel, en ce sens que peu de substances sont en mesure d'inactiver l'enzyme en s'attaquant à un seul point précis : le di-isopropyl fluorophosphate (DFP) se combine spécifiquement à la sérine; le parachloromercuri-benzoate (PCMB) agit de même sur la cystéine ainsi que les arsenicaux (ce qui explique, en grande partie, les effets toxiques de l'arsenic); mais dans les deux cas, l'agent chimique n'agit pas aussi précisément que l'acide iodo-acétique sur la ribonucléase.



Richard Colin



Richard Colin

◀ *A gauche, obtention de* **chymotrypsine** *par activation du* **chymotrypsinogène** : *après élimination de 15 A.A. (segment épais), le rapprochement (flèche verte) de deux portions de la molécule constitue le site* **catalytique** *(points rouges). A droite, structure schématique de la* **ribonucléase.**

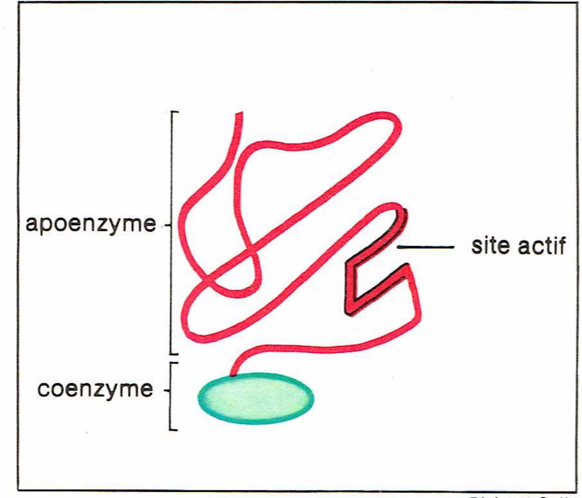
Enzymes complexes. Nature des coenzymes

L'association de deux molécules, l'une protéique, l'autre de nature très variable, constitue l'enzyme *stricto sensu*.

La partie protéique des enzymes complexes peut être comparée, approximativement, à ce que nous venons de voir pour les enzymes purement protéiques. Cette protéine, qui constitue l'*apoenzyme*, possède une partie du site actif, puisque la liaison enzyme-substrat se fait à son niveau; par contre, le site catalytique est constitué par la partie non protéique ou *coenzyme* (cette partie est encore appelée cosubstrat par Karlson et divers biochimistes). On qualifie également le coenzyme de *groupement prosthétique* (= « groupement ajouté », suivant l'étymologie grecque). Le rôle de l'apoenzyme protéique est de reconnaître la molécule de substrat et de s'y accrocher en entraînant le coenzyme. Le rôle de la protéine dans la spécificité de la réaction est facilement mis en évidence; ainsi, diverses enzymes à rôles biologiques très différents comportent cependant le même coenzyme.

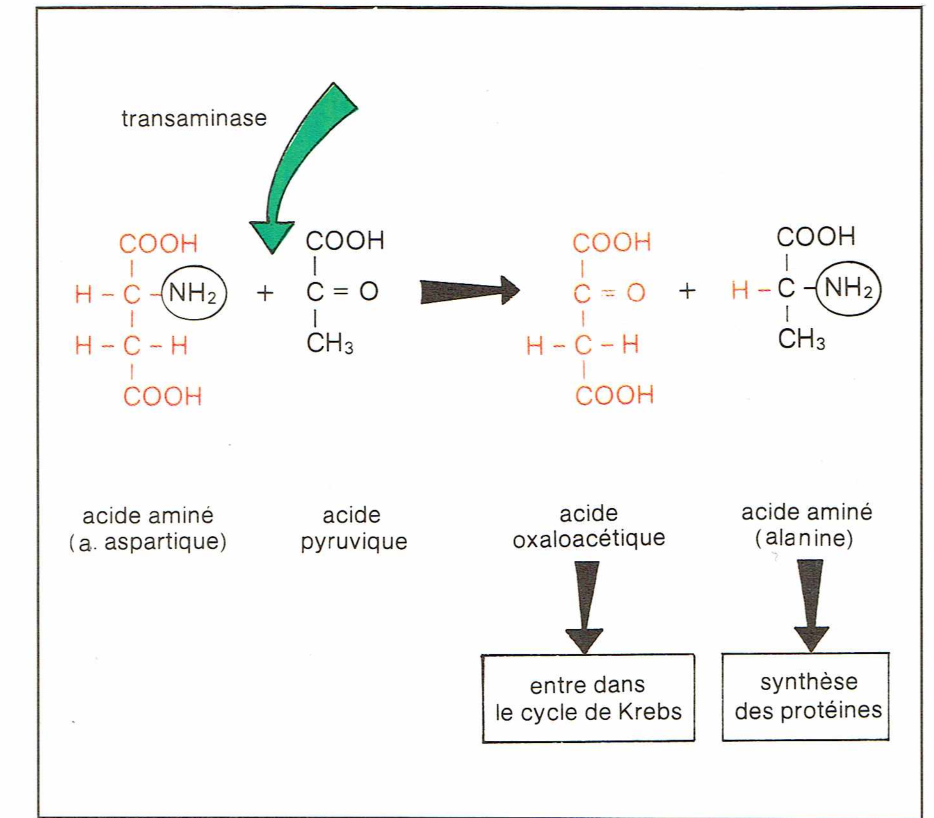
L'apoenzyme joue parfois un rôle plus direct dans la catalyse; les exemples sont rares; dans le cas des *transaminases*, chargées du transfert d'un NH_2 d'un acide aminé sur un acide à fonction cétonique, et des *décarboxylases*, les réactions catalysées par ces enzymes sont bien différentes, et elles ont cependant le même coenzyme; l'apoenzyme protéique joue donc un rôle catalytique. D'ailleurs, il n'existe qu'une vingtaine de coenzymes, alors que le nombre d'enzymes dépasse très largement le millier. Le cas des transaminases et des décarboxylases n'est sans doute pas exceptionnel. La liaison apoenzyme-coenzyme est de force très variable suivant la nature de l'enzyme. Étant donné qu'il y a peu de coenzymes, on les classe facilement suivant leur nature ou suivant leurs fonctions.

▶ *Constitution schématique d'une enzyme complexe.*



Richard Colin

▼ *Exemple de réaction de transamination : ici, la transamination a deux fonctions : d'une part, elle facilite l'introduction d'un métabolite dans le cycle de Krebs, d'autre part, elle permet la formation d'un A.A. nouveau. Son rôle permet donc une modulation du métabolisme en fonction des besoins.*



Richard Colin

■ *Coenzymes d'oxydo-réduction.*

Ce sont des molécules servant au transfert d'électrons ou d'hydrogène (réactions d'oxydo-réduction).

Les réactions cellulaires d'oxydo-réduction sont à la base des mécanismes vitaux; elles amènent la formation de molécules riches en énergie, indispensables pour toutes les synthèses. Des oxydations interviennent dans la dégradation des substances constituant la cellule, en particulier des réserves glucidiques ou autres. En d'autres termes, des matériaux de toute nature se dégradent pour que les constituants cellulaires se renouvellent *(turn-over)*. Le niveau énergétique total est maintenu malgré les pertes qui sont imputables à l'activité de la cellule et dépend d'un apport de nourriture strictement régulé en fonction de cette activité.

Toutefois, l'oxydation des divers substrats ne se fait pas directement en présence de l'oxygène dissous dans les milieux extra- ou intracellulaires; en effet, cette oxydation conduirait à un dégagement brutal d'énergie calorique, véritable flambée dans laquelle on peut imaginer que toute la cellule se volatiliserait... En réalité, l'oxydation d'un substrat se fait *par étapes*, ce qui implique une fragmentation de la libération d'énergie et son utilisation rationnelle; on peut faire une analogie avec une succession de petits barrages bien répartis sur le cours d'une rivière tumultueuse et irrégulière, et qui en « civilisent » le débit.

Les oxydations du substrat sont couplées avec la *réduction* de substances actives, qui sont des *transporteurs d'électrons ou d'hydrogène*. Ces transporteurs sont peu nombreux; il s'agit des *coenzymes* des *déshydrogénases*. Des *séries* de transporteurs sont impliquées dans le mécanisme : on peut dire qu'ils se passent des électrons arrachés au substrat et qu'ils les amènent ainsi à l'accepteur final, c'est-à-dire à l'oxygène. Chaque coenzyme des déshydrogénases accepte d'abord, puis cède au coenzyme voisin les électrons qui proviennent de la déshydrogénation du substrat (oxydation).

On observe une nette diminution du potentiel énergétique des électrons (e^-) entre le moment où les atomes d'hydrogène sont arrachés au substrat et celui où ils parviennent à l'oxygène : pour un électron, le potentiel redox (réduction-oxydation) passe de — 0,5 volt à + 0,75 volt. Cette diminution du potentiel négatif est liée au fait que des quanta énergétiques sont prélevés à plusieurs niveaux dans la chaîne des transporteurs et utilisés pour la phosphorylation de molécules telles que l'ADP : c'est le couplage dit des *phosphorylations oxydatives* (Lowy). Williams compare l'ensemble à une centrale électrique cellulaire dont le potentiel serait capté en différents points; poursuivant l'analogie évoquée précédemment, nous dirons que l'énergie est captée au niveau de barrages établis sur le cours de notre rivière tumultueuse.

Détaillons un peu le phénomène. Une première déshydrogénase de la *chaîne respiratoire*, qui arrache H_2 au substrat, va ensuite le passer à une seconde déshydrogénase; dans la réaction de transfert, l'énergie libérée va servir à la formation d'une molécule d'ATP (à partir d'ADP et de phosphore inorganique). Les *deux premiers coenzymes* responsables sont la *nicotinamide-adénine-dinucléotide* (NAD) et la *flavine-adénine-dinucléotide* (FAD).

● La **NAD** comprend deux *nucléotides*, c'est-à-dire deux molécules de *ribose* — un sucre en C_5 — phosphorylées et combinées à deux bases azotées hétérocycliques, l'*adénine* et la *nicotinamide;* les nucléotides sont reliés par leur groupement phosphorylé — pont pyrophosphate. C'est le noyau de la nicotinamide qui va capter l'hydrogène du substrat; ce noyau est fortement résonnant et comporte un atome d'azote; après combi-

naison avec le ribose, l'azote d'un tel noyau constitue un pôle positif, d'où le sigle NAD^+. Un atome d'hydrogène se fixe sur ce noyau ainsi qu'un électron, ce qui implique une délocalisation des électrons pi et des doubles liaisons. On écrit : $NAD^+ + 2\ H \rightarrow NADH + H^+$, ou, en simplifiant : $NAD + 2\ H \rightarrow NADH_2$ (Kruh).

● Dans la phase suivante, H_2 est repris par le second coenzyme, la **FAD**, qui devient $FADH_2$. Les déshydrogénases à FAD ont un potentiel d'oxydo-réduction supérieur à celui des déshydrogénases à NAD, ce qui explique qu'elles puissent capturer l'hydrogène de ces enzymes : les FAD déshydrogénases oxydent ou, ce qui revient au même, déshydrogènent les enzymes à $NADH_2$.

La FAD est encore faite de deux ribonucléotides liés par un pont pyrophosphate et comportant une base purique, l'adénine; de plus, un groupement flavinique, hétérocycle à trois noyaux azotés, constitue la partie active du coenzyme : deux atomes d'hydrogène vont s'y fixer au contact de deux azotes du noyau flavine — encore appelé noyau alloxazine. Ce coenzyme réduit va pouvoir céder ensuite son hydrogène en présence d'une autre enzyme, le *cytochrome b*, mais nous étudierons ce processus un peu plus loin.

NAD et FAD sont des coenzymes qui peuvent être combinés à des déshydrogénases très diverses, puisqu'elles doivent s'adapter à des substrats très divers. L'apoenzyme protéique est structuralement adapté au substrat, tandis que son coenzyme attaque n'importe quelle substance hydrogénée.

La *vitamine PP*, ou *niacine*, n'est autre que le précurseur de NAD, puisqu'il s'agit de la *nicotinamide*. Cette substance, absolument essentielle, est une vitamine hydrosoluble antipellagreuse : sa carence entraîne d'abord un érythème cutané avec des troubles au niveau du revêtement gingival, puis des saignements et des incidents plus graves du métabolisme général; enfin, si la carence persiste, il apparaît des troubles nerveux qui précèdent la mort. Cependant, sauf dans certains cas extrêmes, l'organisme des Vertébrés peut synthétiser cette vitamine à partir d'un acide aminé, le tryptophane. Les peuples dont l'alimentation est à base de maïs peuvent en présenter une carence très grave; cette Graminée contient, en effet, fort peu de tryptophane, et la vitamine elle-même s'y trouve sous une forme complexée non assimilable. Notons que la quantité de vitamine nécessaire par jour est de 12 à 18 mg dans l'espèce humaine; cela donne une idée des concentrations auxquelles peuvent agir les vitamines et, secondairement, des enzymes fondamentales de l'organisme; cette dose quotidienne mesure l'intensité du *turn-over* de la substance.

La *vitamine* B_2 ou *riboflavine* est le précurseur de FAD. Pour obtenir le coenzyme, il faut une phosphorylation qui donne la flavine mononucléotide, et celle-ci se combine à l'acide adénylique, ou phospho-adénine ribose (qui constituait déjà la moitié de la molécule de NAD). La vitamine B_2 est encore appelée *ferment jaune;* cette coloration est commune aux molécules, de nature diverse, qui comportent un groupement flavinique (cas des papillons jaunes). Au niveau cellulaire, après centrifugation de tissus homogénéisés, les culots de mitochondries, organites hyaloplasmiques chargés d'enzymes respiratoires, sont nettement jaunes.

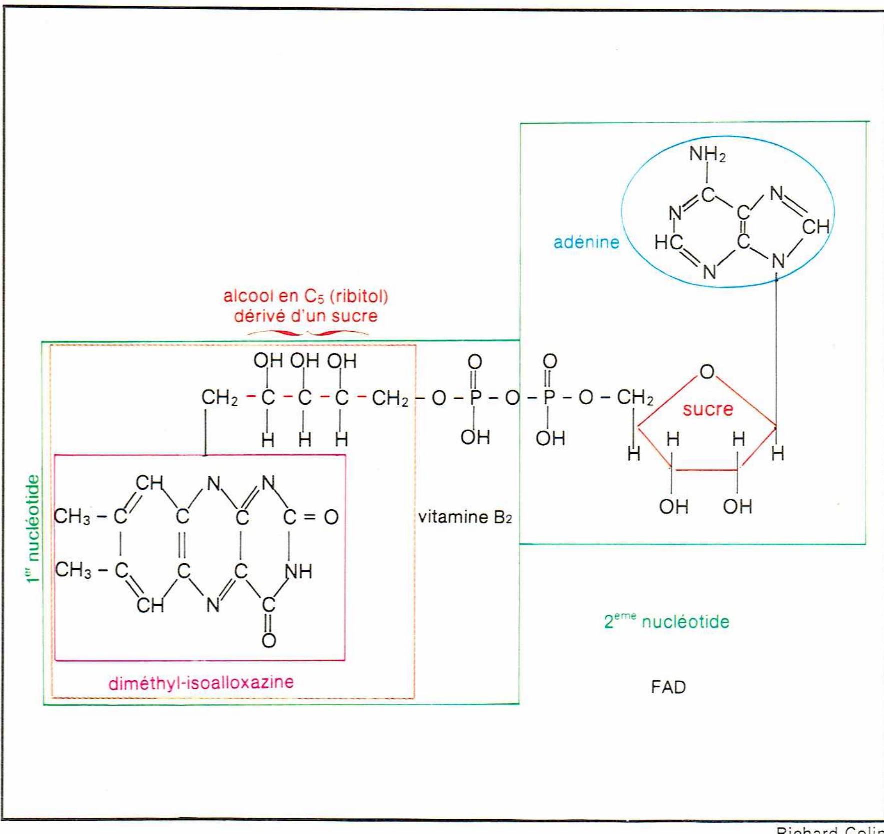
La carence en B_2 ne produit pas de signes cliniques manifestes chez l'homme, et il existe vraisemblablement une voie de biosynthèse, même si elle n'est pas suffisante pour assurer les besoins de l'organisme. Ceux-ci avoisinent 2 mg par jour, mais dépendent de l'âge et des constituants de la nourriture. Cette vitamine existe dans de très nombreux aliments. Kayser note que, durant la dernière guerre, malgré de sévères restrictions alimentaires, les Anglais n'ont jamais souffert d'avitaminose B_2, les feuilles de thé contenant une certaine quantité de cette substance, heureusement thermostable. Par contre, dans nombre de pays chauds, où les aliments sont fréquemment séchés au soleil, l'avitaminose existe car la riboflavine est photosensible.

● Dans la « chaîne respiratoire », d'autres enzymes vont poursuivre le travail commencé par les déshydrogénases à NAD et FAD : ce sont les **cytochromes**. Leurs coenzymes sont construits comme le groupement prosthétique de l'hémoglobine; ils ont un noyau tétrapyrrolique.

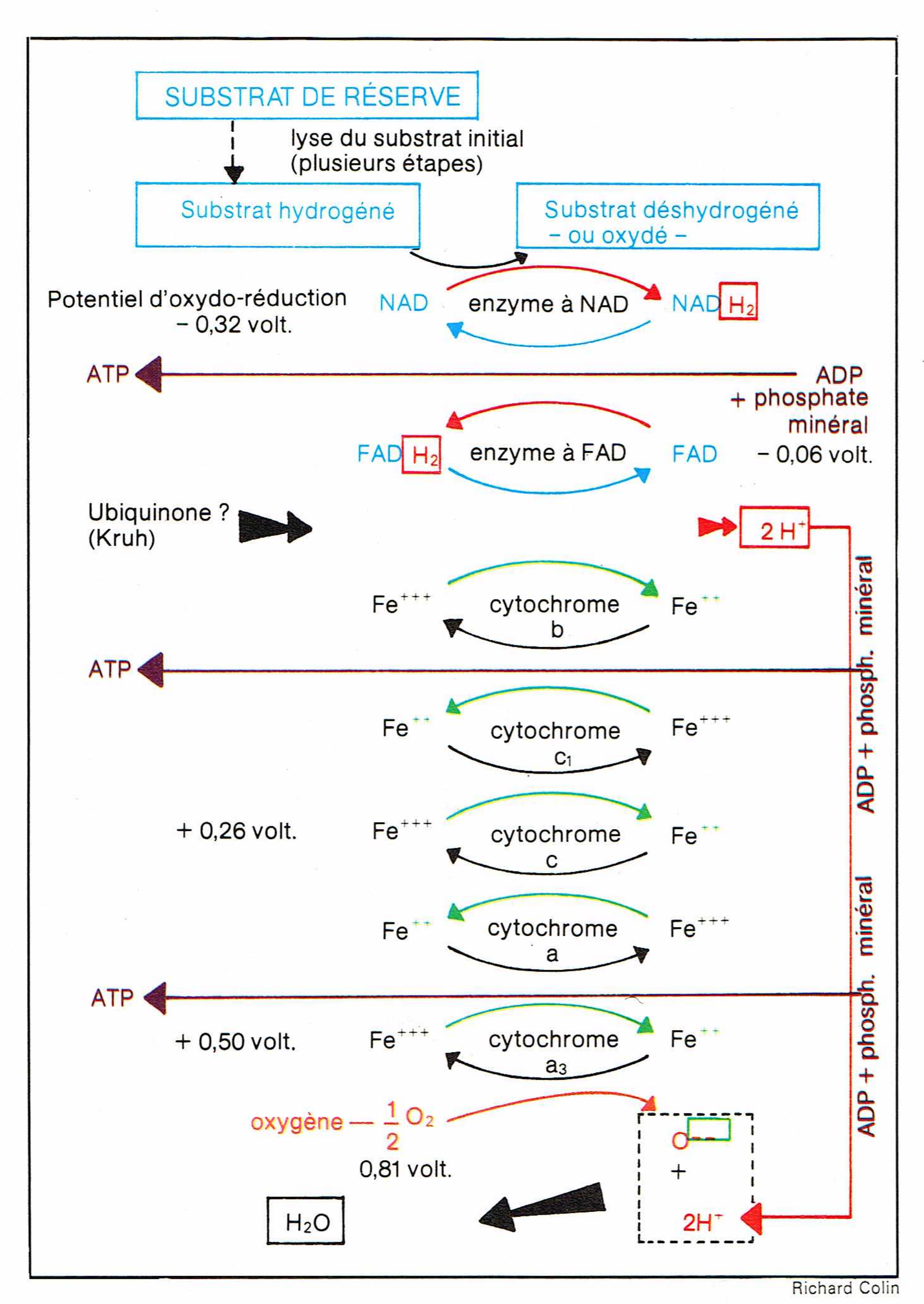
Richard Colin

▲ ***Formule développée du NAD (nicotinamide-adénine-dinucléotide), premier coenzyme intervenant dans les réactions cellulaires d'oxydo-réduction.***

▼ ***Formule développée du FAD (flavine-adénine-dinucléotide), coenzyme intervenant dans la phase suivante de la réaction.***



Richard Colin



Richard Colin

▲ ***Schéma de la « chaîne respiratoire » assurée par une série d'enzymes complexes.***

Ce qui se passe théoriquement est brièvement représenté par le schéma ci-dessus.

On voit ainsi que les cytochromes sont des transporteurs d'électrons, mais non d'hydrogène.

La raison d'être de cette série d'enzymes à potentiel d'oxydo-réduction de plus en plus grand est de fragmenter, comme nous l'avons dit, la perte d'énergie que représente l'oxydation globale : substrat $+ \frac{1}{2}$ O_2. En trois points de la chaîne respiratoire, *3 molécules d'ATP sont formées* grâce à l'énergie fournie par l'oxydation du substrat, c'est-à-dire après la capture de 2 H par les déshydrogénases et le transport de deux électrons le long de la chaîne des cytochromes.

Ce que sont les cytochromes et leurs coenzymes.

Les premières découvertes précises sur les cytochromes datent de 1925, année où Keilin les mit en évidence, d'abord chez les Insectes, grâce à la méthode d'analyse spectroscopique : il constata que les extraits cellulaires contenaient un mélange d'enzymes de nature voisine, mélange indispensable pour la respiration; par ailleurs, Warburg mit en évidence l'influence de l'oxyde de carbone sur un « ferment respiratoire » (Atmungsferment) qui est très proche du cytochrome *a* de Keilin. Actuellement, on a montré que plusieurs dizaines de cytochromes pouvaient exister chez les êtres vivants.

On ne connaît pas complètement la succession des enzymes, donc des coenzymes. Le fractionnement de la chaîne et son analyse posent des problèmes d'une très grande complexité. Ainsi, on a déterminé une molécule nouvelle, le coenzyme Q, ou ubiquinone, mais on ne sait pas très bien à quel niveau elle agit; on ne l'a donc pas placée dans le schéma (Favard). Certains cytochromes sont franchement hydrosolubles et d'autres liposolubles, l'ubiquinone par exemple. Il s'agit d'hétéroprotéines comportant à la fois du fer et du soufre, ou bien du cuivre (cytochrome *a*). Si l'on sait que le fer permet le transfert des électrons le long de la chaîne respiratoire, on ne connaît pas précisément la fonction de tous les ions métalliques.

A titre d'exemple, précisons que l'on trouve 104 acides aminés dans la chaîne du cytochrome *c*; celui-ci comporte un coenzyme à groupement voisin de l'hème (mésoporphyrine substituée). Les coenzymes tétrapyrroliques ont une structure propre à chaque cytochrome.

Quelques remarques. Selon une conception moderne (Williams), les cytochromes, protéines enzymatiques à structure tertiaire bien précise, subissent des modifications structurelles, provoquées, de proche en proche, par la présence d'un électron sur la première de ces protéines et son passage sur la protéine suivante; les modifications alternatives et rythmiques du premier cytochrome, qui se produisent chaque fois qu'il prend puis cède un électron, entraînent, indépendamment du transport direct de cet électron, une modification semblable de tous les autres cytochromes de la chaîne; on a, en conséquence, un *effet coopératif* de nature identique à celui que l'on notait lors de l'oxydation d'une molécule d'hémoglobine ou, plus exactement, de l'une des quatre molécules associées.

De l'eau est formée au contact des mitochondries; elle peut être éliminée ou utilisée pour les besoins cellulaires. De plus, des protons H^+, en se combinant aux anhydrides d'acides phosphoriques, augmenteraient le stock de pyrophosphates :

$$2\ HPO_4^{--} + 2\ H^+ \rightarrow H_2P_2O_7^{--} + H_2O.$$

Les pyrophosphates, s'ils passent en milieu alcalin en traversant la membrane cellulaire, s'hydrolysent en libérant l'énergie stockée, ce qui permet la synthèse de diverses molécules.

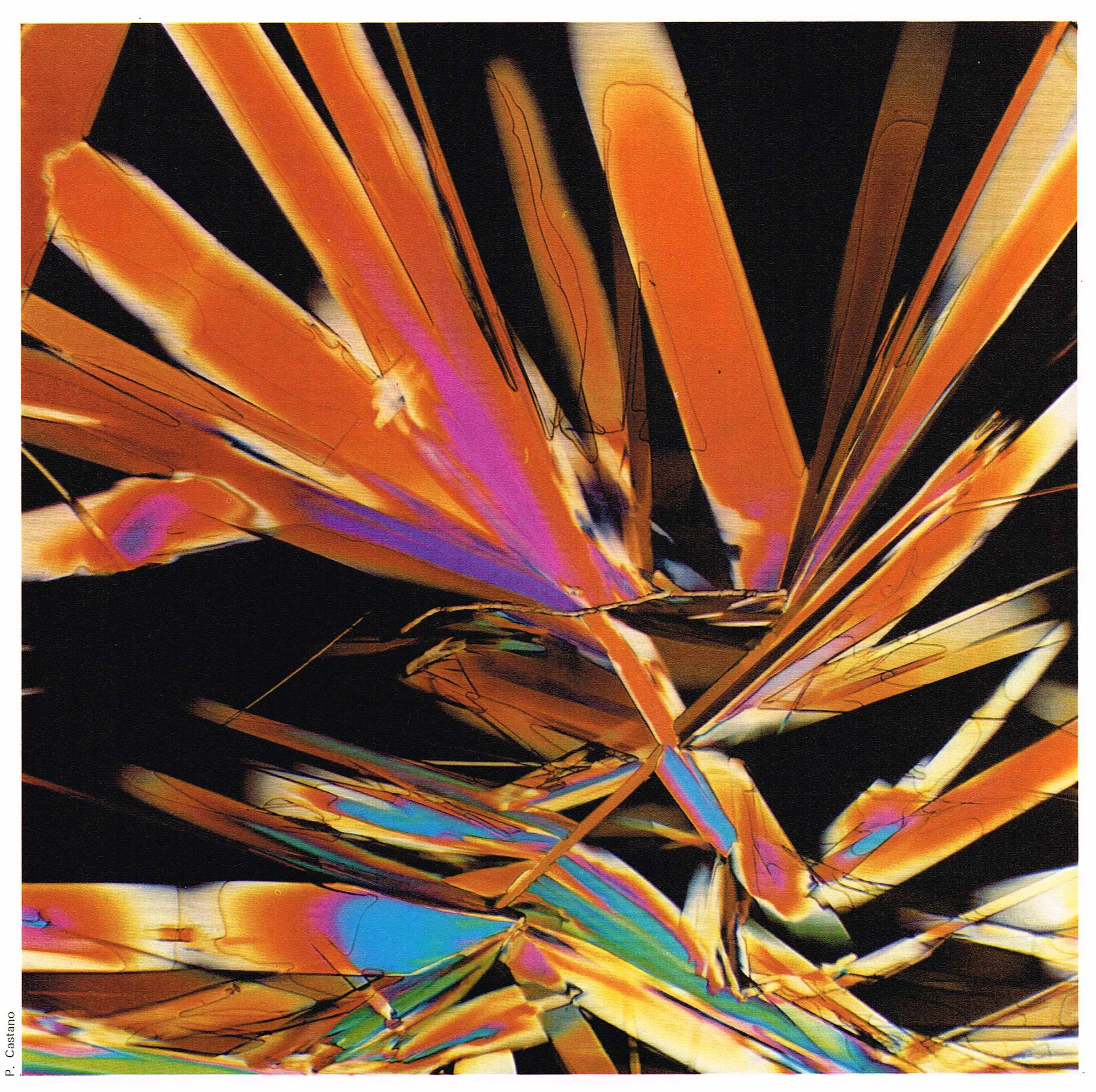
En somme, les oxydo-réductions dont sont responsables les protéines enzymatiques entraînent la fabrication de molécules riches en énergie à partir de substrats de réserves constitués par apport nutritif. Ces molécules, plus ou moins riches, sont, schématiquement, de deux types : d'une part, l'ATP qui intervient dans un très grand nombre de réactions dont dépendent la vie et l'activité de l'individu, et, d'autre part, les pyrophosphates stockés dans la cellule.

Les coenzymes des cytochromes sont synthétisés par la cellule. Les porphyrines des coenzymes sont fabriquées par les mitochondries, ce qui implique, comme pour la synthèse de l'hème, l'intervention de plusieurs enzymes.

● Régulation de l'activité des enzymes d'oxydo-réduction. Effets des agents toxiques

Le fonctionnement des enzymes d'oxydo-réduction dépend de divers facteurs qui agissent en découplant les phosphorylations oxydatives ou en bloquant l'action des coenzymes. Ainsi, l'*hormone thyroïdienne* empêche la synthèse excessive de molécules phosphorylées; les variations importantes du métabolisme, c'est-à-dire finalement de l'excrétion de CO_2 et d'H_2O, dépendent directement du fonctionnement de la thyroïde; par ailleurs, dans toutes les cellules, un agent chimique de nature mitochondriale, le *mitochrome,* permet une régulation du taux des phosphorylations.

D'autre part, bien des substances se révèlent toxiques pour la cellule en empêchant l'activité des cytochromes : la *naphtoquinone* bloque le transfert des électrons; l'*uréthane* agit de la même manière au niveau du cytochrome *b; l'oxyde de carbone,* les *cyanures* et l'*hydrogène sulfuré* inactivent le cytochrome a_3. La fumée du tabac contient ces trois dernières substances; chargée de cancérigènes, comme les fumées d'échappement de nos moteurs, la fumée de tabac est donc également riche en gaz asphyxiants; bien des insuffisances respiratoires et des affections bronchopulmonaires rebelles à tout traitement sont dues à ces gaz qui dégradent, désorganisent et mortifient la cellule vivante.



P. Castano

▲ *Cristaux* de vitamine B_1, *ou pyrophosphate de thiamine, vus au microscope en* lumière polarisée. *Cette vitamine est nécessaire à l'utilisation de l'acide pyruvique pour la synthèse de molécules riches en énergie.*

■ *Coenzymes des transférases.*

Les *transférases* permettent le transfert de radicaux d'une molécule à une autre : ce sont les transméthylases, les transaminases, les phosphokinases, etc.

Durand souligne l'importance de deux coenzymes indispensables pour ces transférases : l'*ATP* et le *coenzyme A ;* nous y ajouterons l'*acide folique* et le *phosphate de pyridoxal,* ou *vitamine* B_6.

• L'adénosine triphosphate, ou ATP

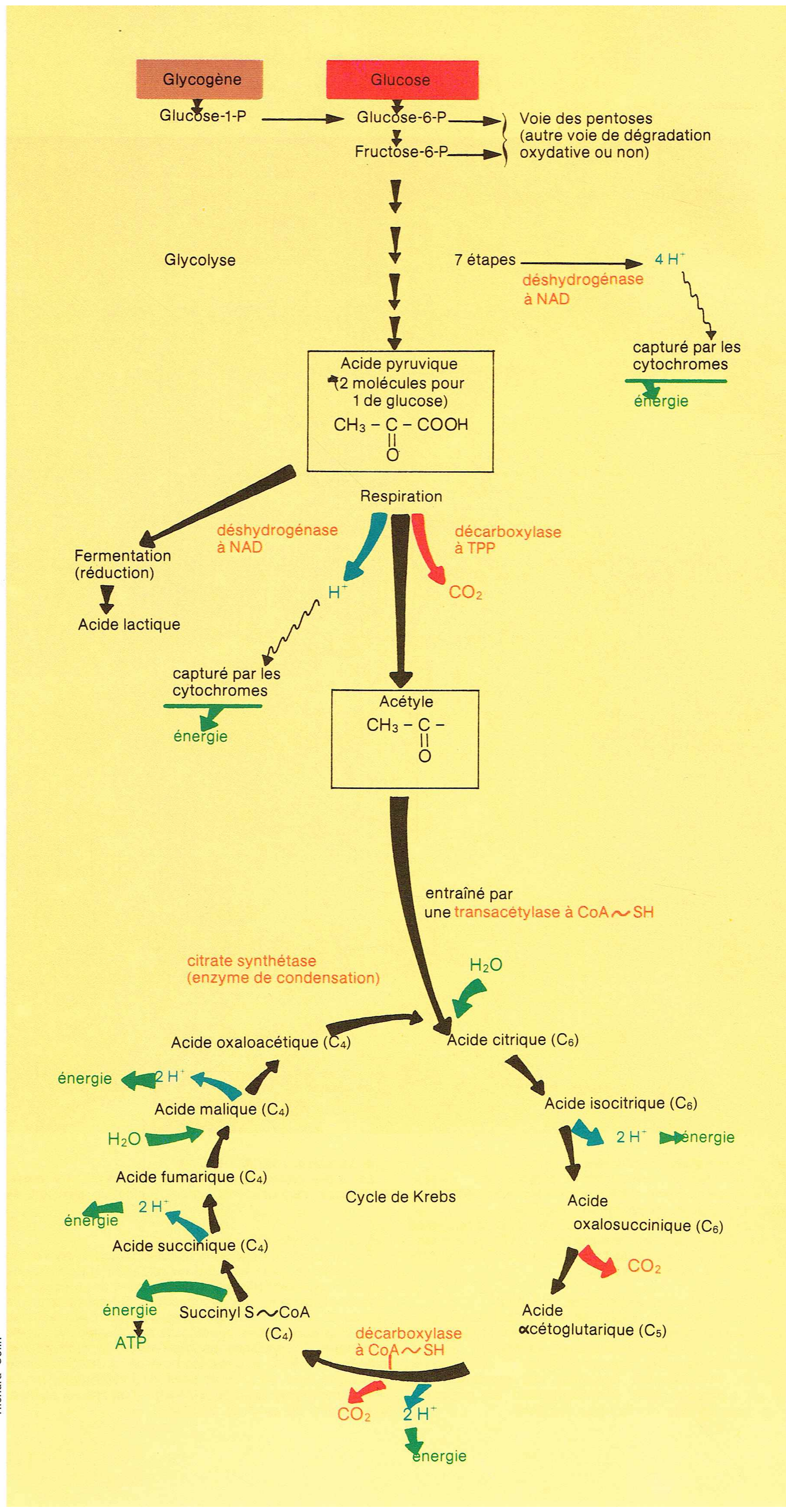
Nous commençons à connaître cette substance clef, dont nous avons déjà noté l'importance dans la régulation ionique au niveau membranaire. Lâchement associé aux apoenzymes des *phosphokinases,* il phosphoryle diverses molécules sur lesquelles ces protéines sont venues s'adapter; cette phosphorylation est indispensable pour de très nombreuses réactions.

• Le coenzyme A, ou CoA

Lié à des protéines spécifiques pour former les *transacétylases,* ce coenzyme soufré permet le transfert de radicaux acétyle $CH_3—\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}—$.

En particulier, il catalyse le transfert d'acétyle sur l'acide oxaloacétique, avec formation d'acide citrique; c'est une des phases essentielles de la dégradation des glucides de réserve et, partant, une des réactions qui permettent à la cellule de trouver l'énergie nécessaire pour son activité.

— Plusieurs étapes conduisent des réserves à l'acide pyruvique. En présence de deux enzymes, une déshydrogénase à NAD et une décarboxylase à CoASH, l'acide pyruvique perd un CO_2 et cède de l'hydrogène, tandis que le coenzyme CoASH se charge d'un radical acétyle, c'est-à-dire du substrat fragmenté.



▶ ***Représentation schématique des étapes de dégradation des glucides : niveaux d'intervention de CoASH ; niveaux d'intervention de la chaîne enzymatique respiratoire (cytochromes). H+ est transporté vers l'oxygène par NAD, FAD et les cytochromes de la chaîne respiratoire qui interviennent donc à plusieurs niveaux ; l'énergie captée sert à la formation d'ATP, ou de GTP (guanosine triphosphorée), molécules à contenu énergétique élevé.***

— En présence d'eau, le radical acétyle est transféré sur un acide en C_4, l'acide oxaloacétique : le coenzyme A est alors régénéré après formation d'un acide en C_6, l'acide citrique. Puis cela entraîne la libération d'une grande quantité d'énergie.

Ces réactions, qui constituent une décarboxylation oxydative, représentent un carrefour métabolique primordial ; en effet, si cela ne se produit pas, l'oxydation ultérieure des substrats, *en présence d'oxygène,* est absolument impossible (respiration) ; la cellule doit alors survivre en utilisant une voie de dégradation anaérobie, ou fermentation, et cela est loin d'être toujours réalisable. Notons quelques précisions utiles sur la respiration : l'acide citrique est entraîné dans une série de réactions qui permettent une libération fractionnée de l'énergie contenue dans la molécule de substrat. Finalement, ce parcours aboutit à la formation d'acide oxaloacétique ; l'ensemble constitue donc un *cycle* puisque cet acide est alors capable de se transformer à nouveau en acide citrique au contact d'un nouvel acétyl CoA ; c'est le *cycle de Krebs* (1938). Notons que des déshydrogénases, puis les cytochromes, dont nous avons parlé plus haut, permettent à ce cycle de « tourner », puisqu'il implique non seulement une élimination de CO_2, mais aussi la formation de H_2O en présence d'oxygène. On voit que les transférases à CoASH et les enzymes telles que les cytochromes participent conjointement à la fragmentation du substrat. Tout cela n'est qu'un schéma.

Le coenzyme A est directement impliqué dans un autre type de réaction d'oxydation, celle des lipides. En effet, Lynen a montré en 1955 que les acides gras se combinent d'abord avec le CoA d'une enzyme spécifique avant d'être oxydés en plusieurs étapes. En bref, le CoA permet les dégradations des glucides ou des lipides, dégradations indispensables pour la synthèse de nouvelles molécules, très diverses. Ce coenzyme joue un rôle plus direct dans la synthèse des lipides : l'acétyle qu'il arrache à un métabolite des glucides peut être utilisé pour la construction d'un acide gras de réserve (voir « lipides »).

● **L'acide folique**

L'acide folique, extrait des feuilles d'épinard par exemple, est une vitamine constituée par la combinaison d'acide glutamique et d'un noyau complexe (ptéroyl).

Cette vitamine est un coenzyme des *transformylases* qui permettent le transfert de radicaux formyle —CHO ou hydroxyméthyle CH_2 — OH. Chez l'animal, sa carence entraîne une anémie et des troubles divers, en particulier de l'absorption intestinale des glucides et des lipides. Il semble que l'acide folique agit en parallèle avec une autre vitamine à fonction de coenzyme, la *vitamine* B_{12}, ou *cyanocobalamine.* La structure de cette molécule, à la fois nucléotidique et porphyrinique, suggère qu'elle peut jouer un rôle dans les oxydations au niveau des acides nucléiques de cellules qui se divisent activement : moelle osseuse, revêtement intestinal, etc.

● **Le phosphate de pyridoxal : dérivé de la vitamine B_6**

C'est un coenzyme des *transaminases.* L'enzyme, après adaptation sur une molécule aminée particulière, permet le transfert de NH_2 sur un acide cétonique. Cette vitamine est essentielle pour le métabolisme des acides aminés, aussi bien pour leur *synthèse à partir d'autres acides aminés* donneurs de NH_2 que pour leur *catabolisme* (dégradation) ; elle permet aussi la synthèse de molécules diverses à partir de matériaux accepteurs de NH_2 transféré.

vitamine B_6

CHO

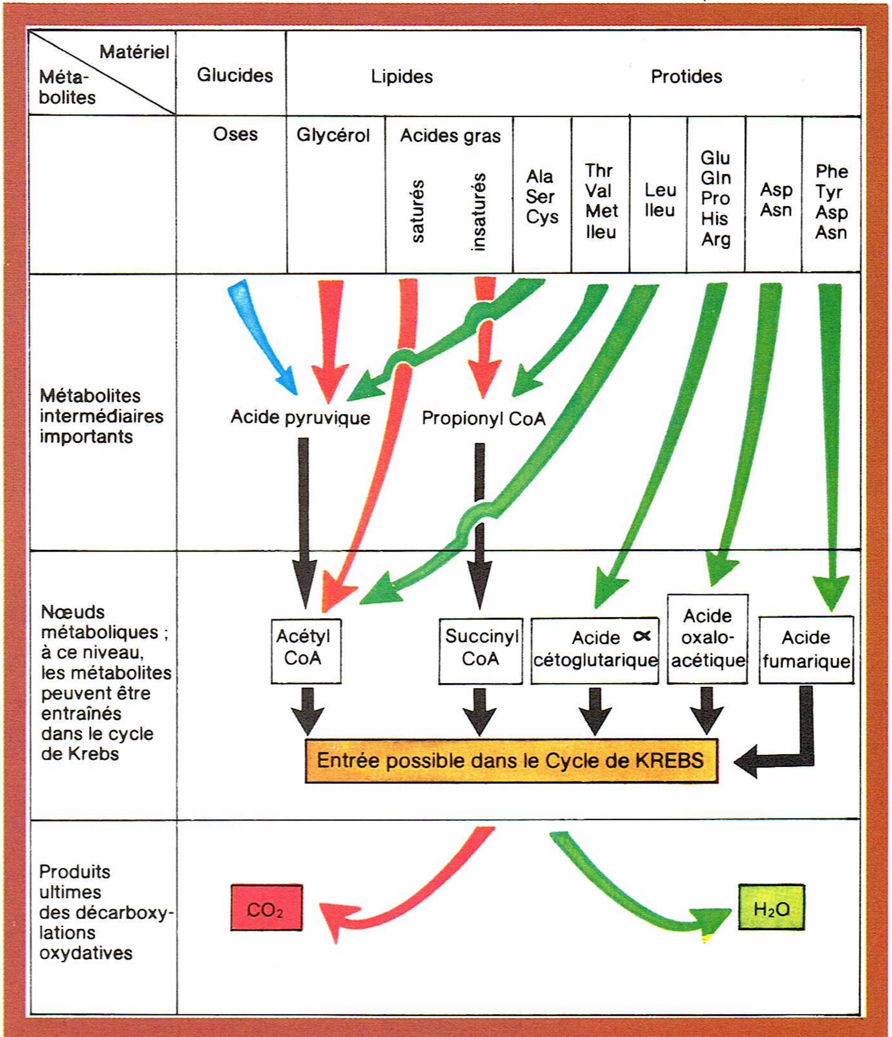
OH — CH_2 — O — P = O (OH)(OH)

H_3C — N

Phosphate de pyridoxal

Richard Colin

◀ ***Structure du** phosphate **de pyridoxal ; en rouge, le radical permettant la capture d'un** NH_2.*



Richard Colin

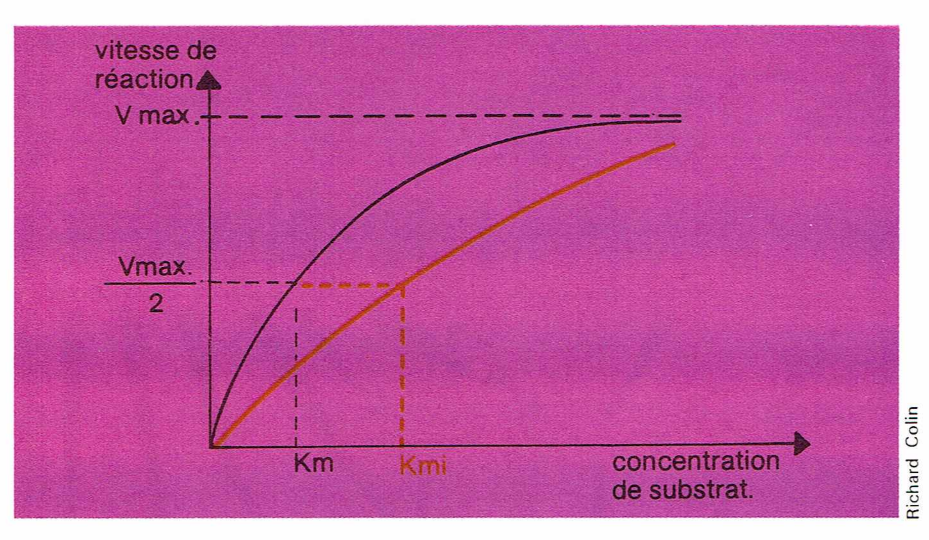
▲ ***Modes de** dégradation **de divers substrats (d'après Kruh).***

La carence en vitamine B_6 entraîne des troubles assez peu fréquents et qui ne se produisent que dans les régimes trop riches en protéines. Ces dernières, plus exactement, les acides aminés, se révèlent antagonistes du coenzyme. Nous avons là un exemple de blocage enzymatique par excès de substrat, notion sur laquelle nous reviendrons. Les seuls cas de carence véritable ont été observés, il y a quelques années, chez des nourrissons américains ayant absorbé de manière régulière des aliments qui avaient été soumis à des températures trop élevées (« baby food »).

En fait, il n'y a pas de cas notables de carence en B_6 : la nourriture de l'homme, même si elle est trop souvent réduite, contient assez de cette vitamine : les légumineuses et les céréales sont des sources suffisantes. Cependant, on estime que, durant la grossesse, l'augmentation considérable des besoins énergétiques peut entraîner une avitaminose B_6 ; celle-ci se traduirait par des nausées.

■ *Remarques sur les divers types de coenzymes.*

Avant d'en terminer avec les notions essentielles qui concernent les coenzymes, remarquons que nombre d'entre eux sont des vitamines ou des composés comportant dans leur molécule un facteur vitaminique. Il s'agit de vitamines *hydrosolubles,* dont beaucoup appartiennent au groupe B. Nous avons vu, rappelons-le, les fonctions des vitamines suivantes : la nicotinamide, ou PP, la riboflavine, ou B_2, la thiamine, ou B_1, l'acide folique, la vitamine B_{12}, le pyridoxal, ou B_6. Les autres coenzymes peuvent être des *porphyrines* liées à des atomes métalliques — coenzymes des cytochromes — ou des *molécules complexes* comme l'ATP ou le coenzyme A. Il existe aussi divers coenzymes *purement métalliques :* nous n'avons pas envisagé ces cas, qui concernent des réactions enzymatiques en fait très diverses et beaucoup moins étudiées.



Richard Colin

▲ *Action d'un* **inhibiteur compétitif;** *en noir, la courbe de réaction sans inhibiteur. On note qu'en présence d'inhibiteur, la réaction est faible et que la constante de Michaelis est considérablement plus élevée* (**Kmi** *au lieu de* **Km**).

Phénomènes d'inhibition et d'activation des enzymes

Les substances qui inhibent ou favorisent l'action d'une enzyme sont des *effecteurs*. Leur mode d'action est très variable : ils peuvent, en effet, agir sur l'apo- ou le coenzyme, sur l'ensemble enzyme-substrat ou encore sur le substrat seul (Kruh).

De très nombreuses réactions dépendent d'**inhibiteurs,** qui sont dits **compétitifs** parce que leur structure moléculaire est proche de celle du substrat. Leur affinité pour l'enzyme est très nettement supérieure à celle du substrat normal, et, d'autre part, ils ne peuvent pas participer à la chaîne des réactions biologiques : on constate alors un *blocage* métabolique au niveau de ces inhibiteurs, le substrat normal restant inemployé. On a : $E + S + I \rightarrow (EI) + (ES)$; (EI) étant un complexe métaboliquement inactif.

Plus le substrat est abondant et moins l'effet de l'inhibiteur se fait sentir : l'inhibition est une réaction réversible.

On connaît un très grand nombre d'inhibiteurs compétitifs, chimiquement très voisins des substrats normaux. Ainsi, une préparation d'acide succinique en présence de succinodéshydrogénase doit donner de l'acide fumarique ; il s'agit là d'une étape du cycle de Krebs, grand pourvoyeur d'énergie pour la cellule ; une faible quantité d'*acide malonique* ajoutée à la préparation freine considérablement l'action de l'enzyme ; introduit dans l'organisme, l'acide malonique entraîne un ralentissement métabolique et un empoisonnement très préjudiciable.

Un mécanisme du même ordre permet de provoquer une paralysie plus ou moins intense quand on introduit dans l'organisme des *amines quaternaires*

$$\begin{matrix} R_1 \searrow & & \\ R_2 - & N^+ - R_4, \\ R_3 \nearrow & & \end{matrix}$$

qui entrent en compétition avec l'acétylcholine, l'un des médiateurs chimiques essentiels du système nerveux des animaux ; en effet, sa formule est la suivante :

$$\begin{matrix} CH_3 \searrow & & \\ CH_3 - & N^+ - CH_2 - CH_2 - O - C = O. \\ CH_3 \nearrow & \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ & \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad CH_3 \end{matrix}$$

▼ **Inhibition** *de la formation d'acide fumarique par l'*acide malonique.



Richard Colin

L'acétylcholinestérase, combinée aux amines anormales, ne peut plus agir sur l'acétylcholine, son substrat normal. Chez des animaux qui comportent des médiateurs d'une autre nature, il est bien évident que les amines quaternaires ne sont pas paralysantes. En électrophysiologie, la technique de compétition permet en fait de déterminer la nature des médiateurs particuliers.

Un troisième exemple, important dans la pratique, correspond aux analogues de divers acides aminés ou de bases puriques ou pyrimidiques, substances biologiques essentielles pour l'élaboration des chromosomes, etc. Il s'agit des *antimétabolites,* qui jouent un grand rôle comme agents anticancéreux. Introduits dans le milieu intérieur, ces inhibiteurs entrent en compétition avec des molécules tout à fait indispensables pour la vie et la multiplication de la cellule. Il existe une panoplie de substances antimétabolites qui peuvent, très généralement, ralentir les effets destructeurs des tumeurs.

Enfin, l'action antibactérienne des *sulfamides,* découverte par Tréfouel, Bovet et Nitti (1935), s'explique, comme on le sait maintenant, par l'effet inhibiteur qu'ils exercent sur l'enzyme responsable de l'intégration d'acide para-aminobenzoïque dans la molécule d'acide folique : nombre de Bactéries sont incapables de se multiplier sans acide folique, substance vitaminique dont nous avons déjà évoqué le rôle.

Beaucoup d'inhibiteurs ne sont pas compétitifs
Ce ne sont pas des analogues de substrats normaux.

L'inhibiteur peut se combiner à l'enzyme sans empêcher le site actif de se lier au substrat normal. On obtient alors un complexe du type (SEI). L'enzyme a toujours la même affinité pour le substrat, mais la vitesse de réaction est ralentie. Ainsi, l'ion Pb^{++} inhibe l'uréase. Le complexe produit est biologiquement inactif, comme dans les cas de compétition.

L'inhibiteur peut se combiner au site actif et supprimer toute activité enzymatique. Les composés arsenicaux se lient aux enzymes à cystéine dans le site. CN— et CO se combinent à Fe et Cu des enzymes métalliques, de même que les fluorures se lient aux enzymes à Mg. Enfin, le cas de l'EDTA, ou éthylène-diamine-tétra-acétate, est très important car il bloque des enzymes à métaux divers.

L'inhibiteur peut modifier la structure spatiale de l'enzyme et empêcher sa coaptation avec le substrat.

Généralement, ces inhibiteurs agissent de façon irréversible, ce qui explique l'extrême gravité des intoxications qu'ils peuvent entraîner.

Inhibition par excès de produit
Paradoxalement, le produit normal de certaines réactions peut inhiber la poursuite de celles-ci à partir du substrat encore intact. Il y a donc autorégulation des réactions. Ainsi, le *glucose,* produit de dégradation du *glycogène* animal, se comporte en inhibiteur vis-à-vis de la réaction de déphosphorylation d'un *substrat intermédiaire,* le *glucose-6-phosphate*. Donc, si la dégradation du glycogène est excessive, et si, en conséquence, du glucose s'accumule dans la cellule, celui-ci bloque la transformation de glucose-6-phosphate, et cela même s'il y a une quantité notable d'enzyme, la *glucose-6-phosphatase,* dans le protoplasme ; le résultat est identique quand on introduit un excès de glucose dans le milieu.

Enfin, l'**excès d'un substrat** entraîne un ralentissement des réactions qui le concernent. Cela peut s'expliquer en imaginant que la coaptation des molécules d'enzyme et de substrat s'effectue alors de façon anormale.

Les agents **activateurs** sont moins connus que les inhibiteurs.

— *Rôle protecteur*. Divers *thiols* jouent un rôle protecteur vis-à-vis d'enzymes comportant de la cystéine dans leur site actif, et qui sont donc sensibles aux cyanures et à l'oxyde de carbone. La cystéine ou le glutathion peuvent être ainsi des contrepoisons plus ou moins efficaces dans les cas d'asphyxie.

— *Rôle activateur direct*. L'ion Mg^{++} est, classiquement, un activateur des réactions de transfert du phosphore. Aussi cet ion est-il nécessaire lors de la contraction musculaire qui implique la mise en jeu de l'ATP ; il en est de même durant la division cellulaire, pendant que se construit le fuseau achromatique indispensable à la

cas normal

substrat

enzyme

coaptation normale

excès de substrat

coaptation anormale

coaptation normale

Richard Colin

◀ ***Principe de l'*****inhibition** ***par*** **excès de substrat.**

glycogène

CH_2OH CH_2OH ... O ... O ... O etc...

en présence de phosphorylase + phosphorylase kinase

glucose - 1 - phosphate

CH_2OH ... O - P(OH)(= O)(OH)

en présence de phosphoglucomutase

glucose - 6 - phosphate

$CH_2O - P(OH)(= O)(OH)$

en présence de glucose - 6 - phosphatase

glucose + PO_4H_3

inhibition de l'enzyme s'il se forme trop de glucose

Richard Colin

◀ **Inhibition** ***par*** **excès de produit :** ***cas de la dégradation du glycogène.***

migration des chromosomes. Il existe d'autres exemples, mais, dans beaucoup de cas, on ne sait pas toujours si les ions sont véritablement les activateurs ou s'ils font partie intégrante du complexe enzymatique; certains ions sont en effet des coenzymes, ainsi que nous l'avons déjà signalé.

Étude particulière des **effecteurs allostériques.**

Selon Kruh, les effecteurs allostériques sont les agents régulateurs les plus importants de l'organisme. La notion d'allostérie et de transition allostérique est, semble-t-il, très récente, bien que divers travaux datant de 1940 (Dische-Novick et Szilard) montrent que l'on s'intéressait déjà au problème à cette époque.

Voici un fait noté parmi d'autres; il a été observé chez une Bactérie extrêmement commune, le colibacille *Escherichia coli* (matériel très facile à cultiver en laboratoire : il a servi à un nombre d'expériences réellement incalculable). La L-isoleucine est normalement synthétisée à partir d'un autre acide aminé, la L-thréonine, et cette synthèse implique un nombre élevé d'*étapes intermédiaires;* si l'on ajoute de la L-isoleucine au milieu de culture, on constate que la Bactérie cesse immédiatement de synthétiser de la L-isoleucine. On pourrait donc penser qu'il s'agit là d'une réaction d'inhibition par excès de produit telle qu'elle a été décrite précédemment; il n'en est rien. *Ici, le produit final d'une série de réactions inhibe une enzyme, laquelle catalyse une des réactions initiales. La structure du produit est alors, en général, très différente de celle du substrat initial* (→ allostérie). Cette observation et son interprétation constituent un pas important dans l'étude des mécanismes enzymatiques (Changeux, 1964; Monod, Changeux et Wyman, 1965).

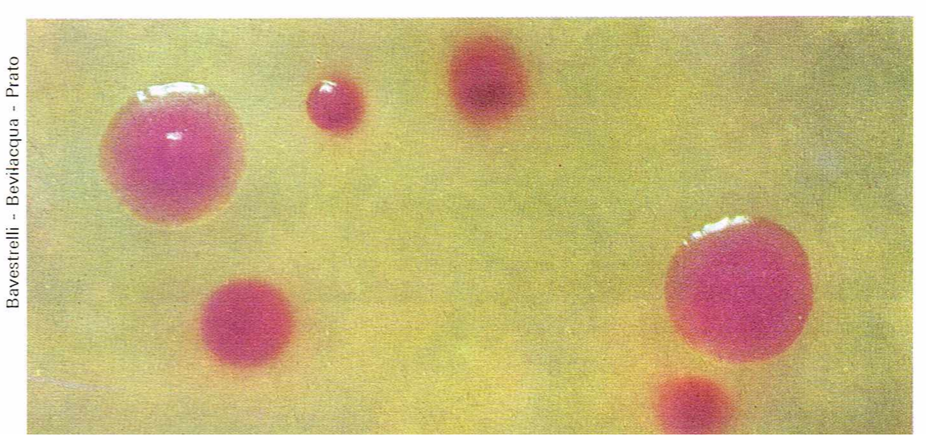
A (L-thréonine) → B → C → D → E → L-isoleucine

(thréonine désaminase)

↑ inhibition allostérique

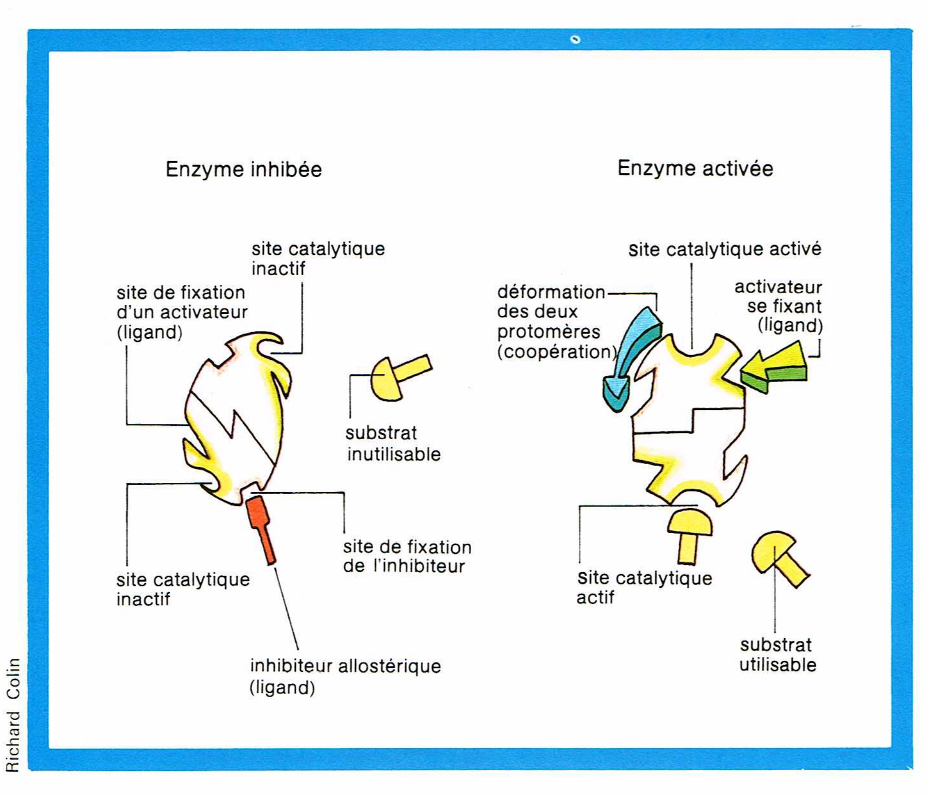
La L-isoleucine est une *molécule-signal,* de petite taille par rapport aux enzymes, et capable de s'ajuster sur des sites récepteurs d'une enzyme particulière, en l'occurrence, la thréonine désaminase. Un tel ajustement est réversible, ce qui permet une régulation extrêmement précise des mécanismes biochimiques, régulation effectuée au niveau de la première réaction de la chaîne.

Avec Monod, Wyman et Changeux, on est amené à considérer que la structure quaternaire de certaines protéines enzymatiques dépend de l'adaptation d'*activateurs* et d'*inhibiteurs allostériques* sur des sites spécifiques des enzymes : un activateur donnera à telle enzyme une structure qui lui permettra de recevoir secondairement un substrat; par contre, un inhibiteur donnera à la même enzyme une structure qui l'empêchera d'accepter le substrat. Les enzymes seraient constituées de *plusieurs protomères* possédant chacun les trois sites dont il vient d'être question. La combinaison d'un *ligand* (effecteur) avec un protomère entraîne la déformation du ou des



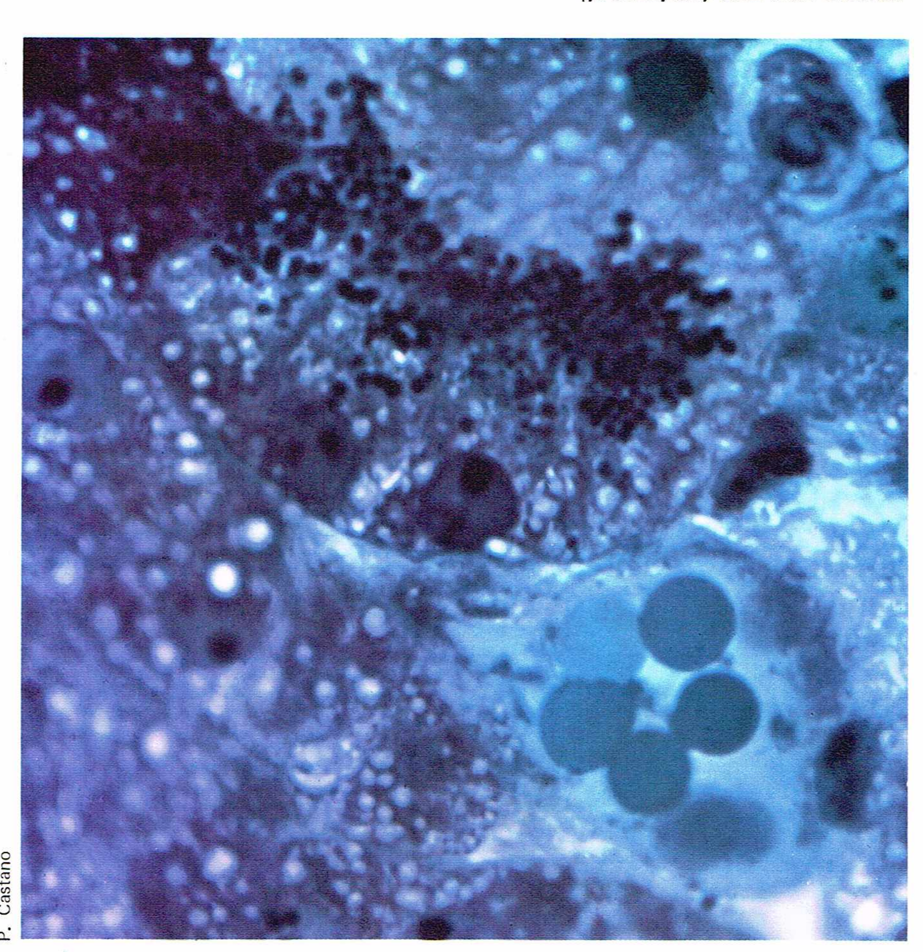
Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

▼ ***Le colibacille*** **Escherichia coli** ***est une Bactérie communément cultivée et utilisée en laboratoire.***



▲ ***Interprétation du phénomène* d'allostérie*; l'activateur apparaît dans la cellule quand il ne se forme pas assez de produit (ex. : isoleucine).***

▼ *Coupe de pancréas de lapin, fixée au tétroxyde d'osmium (OsO_4) et colorée au* bleu de méthylène. *Les grains de zymogène (proenzyme) sont bien visibles.*



protomères adjacents qui sont symétriques du premier; ces autres protomères peuvent alors recevoir le substrat et catalyser sa transformation. Il y a donc là un effet *coopératif* (nous en avons déjà parlé au sujet de l'hémoglobine, qui peut être considérée comme une molécule tétramère enzymatique). Dans le cas de la thréonine désaminase, si la quantité de substrat est faible, la réaction « ne marche pas »; il existe donc un seuil d'efficacité allostérique, et cela ne se produit que dans le cas des enzymes à molécules possédant une structure quaternaire. On peut estimer qu'il s'agit là d'une évolution de l'enzyme, laquelle se trouve ainsi mieux adaptée à sa fonction puisqu'elle ne *transforme que l'excès de substrat.* En d'autres termes, dans la mesure où elle n'agit qu'au-dessus d'un seuil, elle ne « vide » pas la cellule d'un substrat qui, même peu abondant, peut être éventuellement utilisé pour une autre voie métabolique.

La notion d'enzyme vient de la constatation que de telles protéines sont actives à de très faibles concentrations et que les réactions produites sont d'envergure considérable. Pourtant, cela ne doit pas masquer une autre réalité, à savoir que des protéines abondantes dans un organisme peuvent avoir, elles aussi, une activité de type enzymatique. Ainsi l'hémoglobine, en transportant l'oxygène, va catalyser la combinaison 2 $H^+ + O^{--}$, sans subir aucune modification chimique. De même, et c'est peut-être un exemple plus frappant, le complexe protéique contractile des muscles, l'*actomyosine,* mis en présence d'ATP et de Ca^{++}, catalyse la déphosphorylation de l'ATP, ce qui signifie qu'elle possède un site stéréospécifique; après la réaction, l'actomyosine n'est pas modifiée. Nous avons là deux *protéines de structure* qui se comportent comme des enzymes.

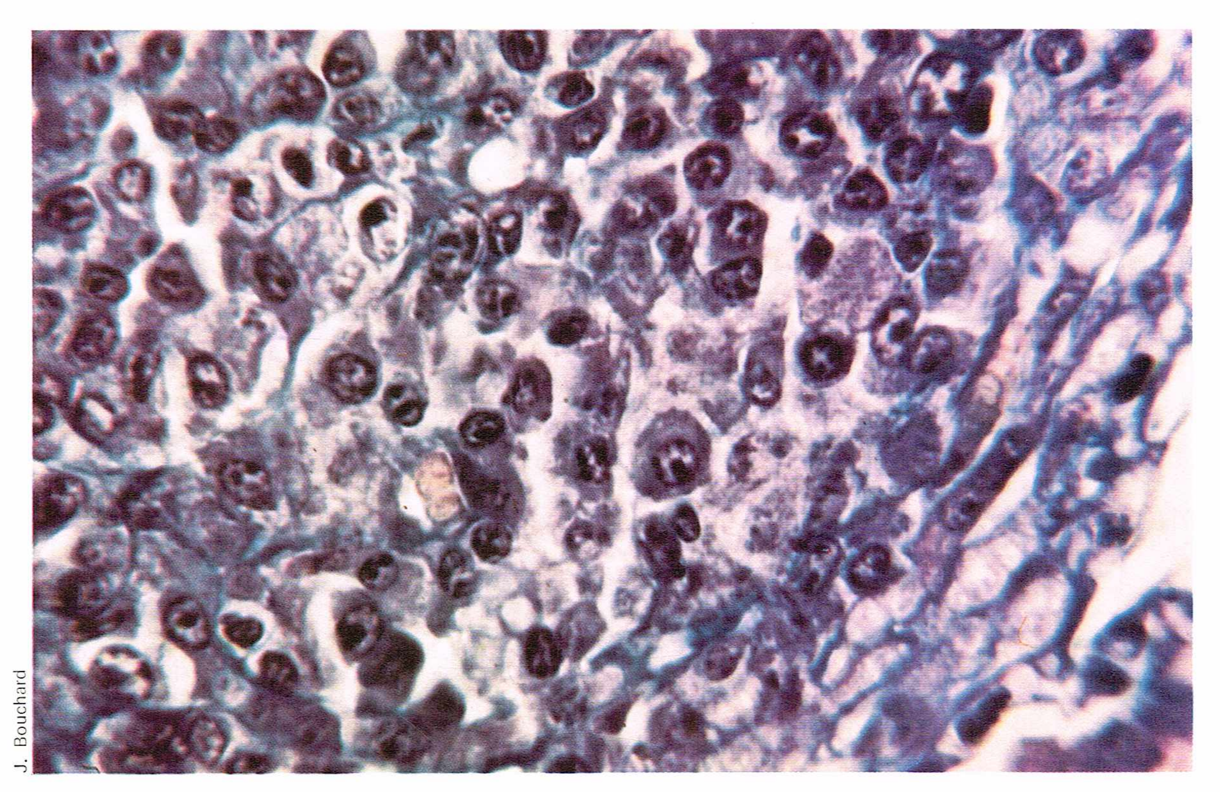
Il semble qu'il faille méditer les mots de M. Durand, qui estime qu' « *a priori,* il ne semble pas y avoir de raison pour que l'explication du *fonctionnement* par la *structure* ne puisse pas être étendue à toutes les protéines ». L'enzymologie est une science jeune, pleine de promesses; bien des problèmes, en particulier ceux qui touchent à la santé, devraient trouver leur solution grâce à elle.

Les acides nucléiques

C'est dans la seconde moitié du XIXe siècle que l'on découvrit les chromosomes, organites très colorables qui sont constitués au sein du noyau cellulaire. On en connut la composition chimique vers 1870 : le biologiste allemand Miescher, tout en soulignant leur caractère *acide,* montra que du *phosphore* s'y trouve en abondance. Ses recherches préfigurent celles des biochimistes de notre temps. Son matériel était assez original : il utilisait le liquide du pus de malades hospitalisés, liquide extrêmement riche en globules blancs. Miescher avait là une source de *cellules déjà en suspension* et pouvant être récupérées en grandes quantités par le lavage de pansements. En effectuant une digestion enzymatique du cytoplasme, il était alors possible d'obtenir une suspension de noyaux; Miescher purifiait cette suspension par agitation, au froid, dans un mélange d'alcool et d'éther, ce qui permettait l'élimination des particules agglutinées sur les noyaux; à chaque étape de la manipulation, il vérifiait au microscope l'état du matériel qu'il traitait, ce qui, selon Durand, devient à notre époque une « précaution essentielle et souvent négligée ».

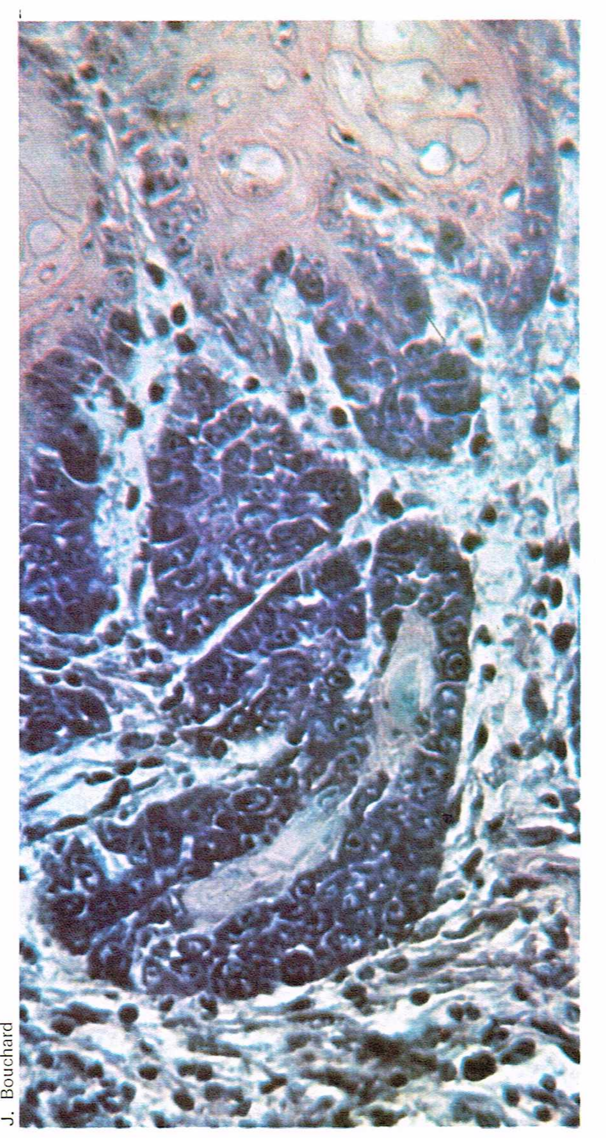
L'analyse des noyaux purifiés montrait qu'ils contenaient, de manière régulière, 9,5 % de phosphore; cela impliquait l'existence d'une nouvelle famille de substances phosphorées et azotées, qui parurent à Miescher aussi importantes que les protéines. Il se rendait compte que c'était là que devait se trouver le nœud du problème de la croissance cellulaire, et il souhaitait que des chimistes professionnels vinssent aider le biologiste pour déterminer « les rapports entre les matériaux nucléaires, les protéines et leurs produits métaboliques immédiats ». Ces espoirs passaient pour chimériques à la fin du siècle...

Il existe, en fait, deux types principaux de substances nucléiques; les unes, très abondantes dans les *noyaux,* correspondent aux *acides désoxyribonucléiques (ADN);*



J. Bouchard

◀ ***Coupe d'une tumeur pulmonaire de souris; mise en évidence de la basophilie cytoplasmique par une coloration topographique.***



J. Bouchard

◀ ***Coupe d'une tumeur épidermique de souris. L'utilisation du* bleu de toluidine *(+ éosine) permet de mettre en évidence la* basophilie du cytoplasme *des cellules tumorales en croissance désordonnée; elles sont particulièrement riches en* ARN.**

les autres se trouvent *dans le cytoplasme* et sont les *acides ribonucléiques (ARN)*, dont la structure rappelle celle des ADN. Bien sûr, les ARN ne pouvaient pas être étudiés par le procédé de Miescher.

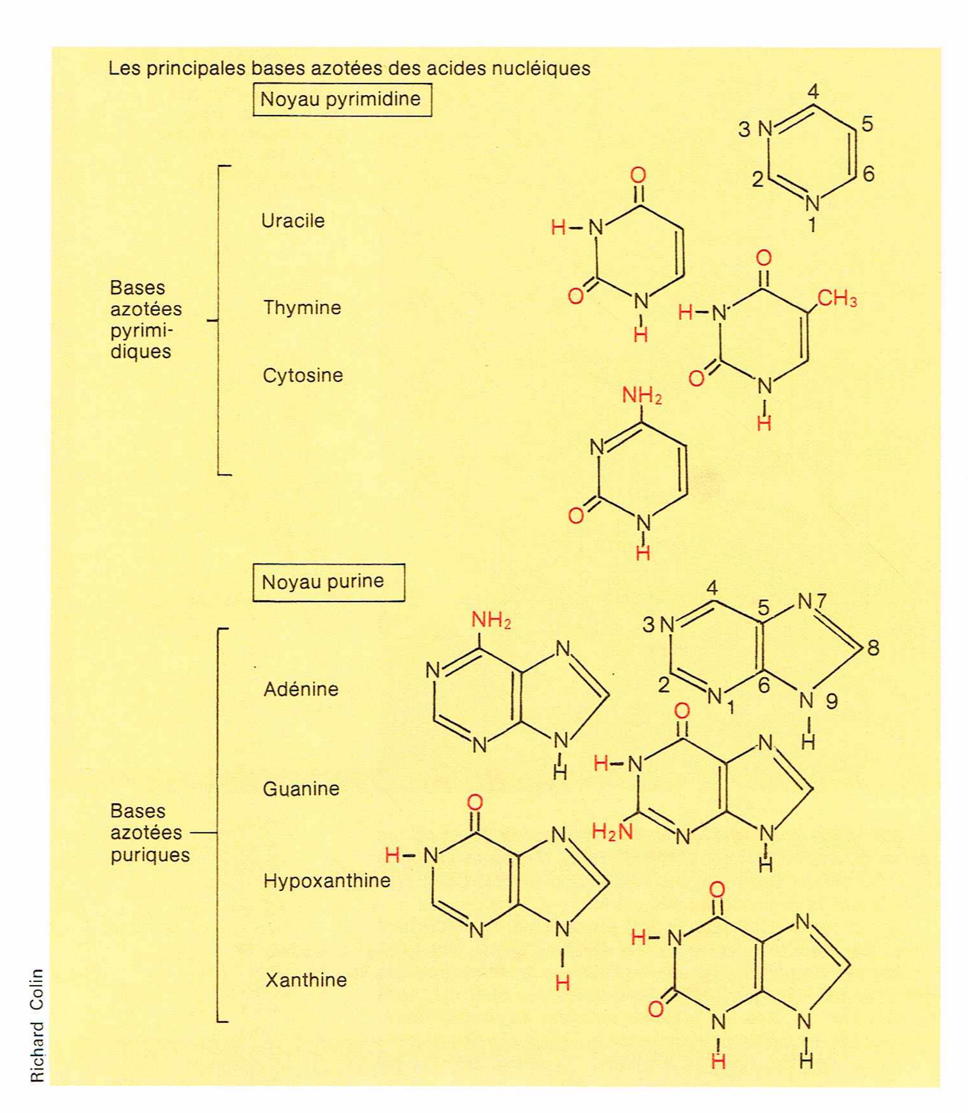
Les acides nucléiques sont électivement colorables dans les *cellules fixées,* c'est-à-dire tuées par une substance ou un mélange de substances qui, en quelque sorte, gèlent les phénomènes métaboliques et empêchent la dégradation des structures visibles au microscope. Ainsi, la *basophilie nucléaire* due à l'ADN est observable en employant la technique de Feulgen : on effectue d'abord une hydrolyse partielle des cellules à étudier, puis on les traite par le réactif de Schiff, qui forme avec l'ADN un complexe rouge violacé. La *basophilie cytoplasmique* due à l'ARN est parfaitement visible avec des colorants bleus tels que le *bleu de toluidine ;* cette réaction n'est pas absolument spécifique des ARN : elle est également manifeste au niveau de l'ADN du noyau. Les techniques de coloration des acides nucléiques seront signalées ultérieurement, mais il convient de noter ici que l'histochimie permet de distinguer des molécules somme toute assez peu différentes, puisque, dans le cas des acides nucléiques, c'est de la nature du glucide qu'ils contiennent que dépend la colorabilité.

Nature chimique élémentaire des acides nucléiques

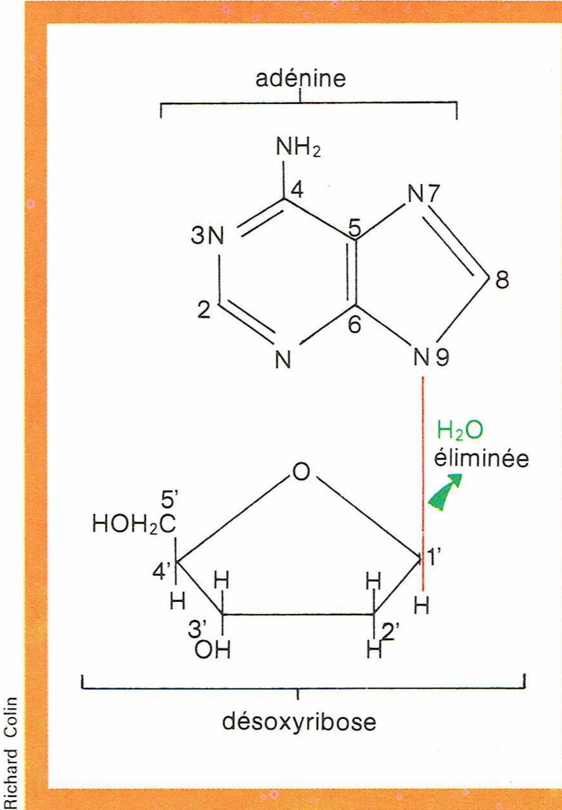
On trouve dans la molécule de ces acides des *bases azotées,* substances dérivées de la *purine* ou de la *pyrimidine ;* ces bases sont combinées à un *glucide* pour former des *nucléosides.* Chaque nucléoside est *lié à de l'acide phosphorique;* l'ensemble constitue un *nucléotide,* nettement acide.

Le **sucre** est soit le *ribose* (dans l'ARN), soit le *désoxyribose* (dans l'ADN), glucide en C_5, à pont oxydrique en 1-4. Dans le second cas, la fonction OH en C_2 est remplacée par un atome d'hydrogène.

```
          O                                   O
 CH2OH  /   \    OH              CH2OH      /   \      OH
5 |    /     \    |                |       /     \      |
  C --         -- C                C --            --   C
4 |   H     H    1|                |    H       H       |
  H   |     |     H                H    |       |       H
      C --- C                           C ----- C
     3|    2|                           |       |
      OH    OH                          OH      H
                                       désoxyribose
   D + ribose                   (2 Désoxy – D ribose)
```



▲ *Les* **bases azotées** *constitutives des acides nucléiques sont combinées à un* **glucide** *pour former des* **nucléosides.**



▶ *Représentation* **du nucléoside** *de l'adénine :* **l'adénosine;** *en rouge, la liaison* **N-glycosidique.**

Les **bases pyrimidiques** dérivent de la pyrimidine, noyau hétérocyclique hexagonal à deux azotes en positions 1 et 3. Il s'agit d'oxypyrimidines : l'*uracile* (U), la *thymine* (T) et la *cytosine* (C).

Les **bases puriques** sont dérivées de la purine, substance résultant de l'accolement d'un noyau pyrimidine et d'un noyau imidazole, hétérocycle pentagonal à deux azotes en positions 7 et 9. Ce sont l'*adénine* (A), la *guanine* (G). L'*hypoxanthine* (H) et la *xanthine* (X) sont des bases puriques servant d'intermédiaires et n'entrant pas dans la composition des acides nucléiques.

La synthèse des bases à partir d'éléments simples met en jeu des molécules riches en énergie; compte tenu des possibilités de délocalisation électronique, l'énergie d'une molécule de base est d'environ 54 kcal M^{-1}, ce qui est très important et qui compense la dépense nécessaire à la synthèse (Pullman). Ces molécules à énergie de résonance élevée étaient conformées, il faut bien le souligner, pour jouer un rôle biologique important car elles sont très *stables :* en effet, lorsqu'elles sont soumises à des radiations ionisantes ou ultraviolettes, elles ne subissent pas de modifications; or, une telle irradiation UV se produit sur la terre, l'atmosphère n'étant pas assez épaisse pour l'éliminer. Cependant, cette épaisseur s'est accrue très progressivement, au fur et à mesure du développement des végétaux verts, producteurs d'oxygène. On peut donc estimer que, durant l'évolution, de telles molécules ont été rapidement sélectionnées en fonction de leur stabilité. D'ailleurs, leur rôle est tellement fondamental que cette stabilité est une nécessité absolue.

En lumière ultraviolette, chacune des bases absorbe préférentiellement certaines longueurs d'onde et donne, par conséquent, un spectre caractéristique; on utilise cette propriété pour des micro-analyses.

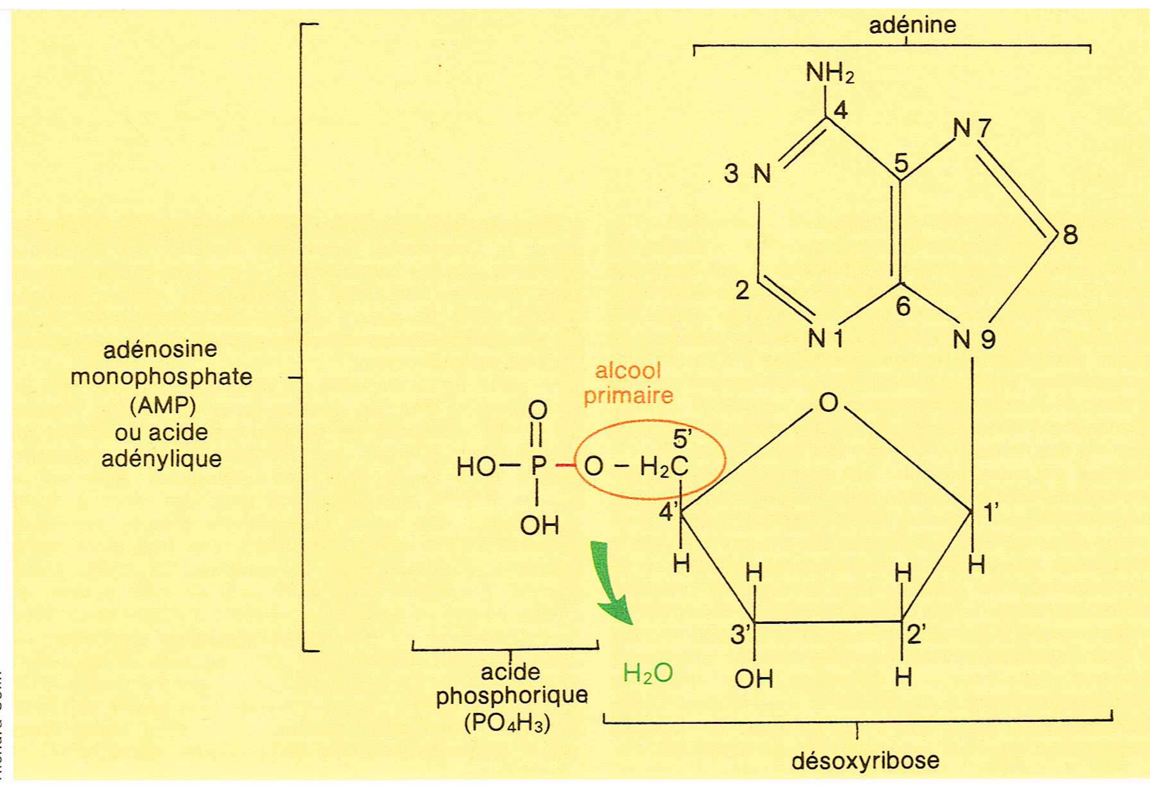
La liaison aboutissant à la formation d'un **nucléoside** s'effectue (avec élimination d'eau) entre un radical alcool secondaire du glucide et un groupement NH de la base azotée; il s'agit d'une liaison N-glycosidique. Par exemple, l'adénosine est un de ces nucléosides, de même que la désoxyadénosine; le désoxynucléoside de la thymine est la thymidine, substance très utilisée en biologie expérimentale pour estimer les taux de synthèse nucléique (ADN).

Les nucléosides se trouvent à l'état libre dans la cellule et représentent une partie de la fraction des substances acido-solubles. On peut les extraire en traitant par un acide un culot de centrifugation, effectué à partir de n'importe quel type cellulaire. Le rôle de ces nucléosides est de servir de *précurseurs* pour les synthèses nucléiques : avec d'autres petites molécules, toutes acido-solubles, ils constituent un stock, un *pool* de précurseurs, véritables pièces détachées de la machine cellulaire. Ce stock montre que la cellule synthétise continuellement ces pièces détachées, « en prévision » des besoins qui se font sentir de manière périodique : en effet, les synthèses nucléiques se produisent durant certaines phases de la vie de la cellule, de façon nettement discontinue.

Un **nucléotide** est formé par estérification entre l'acide phosphorique et la fonction alcool primaire d'un nucléoside. En principe, il peut y avoir estérification au niveau de la fonction alcool secondaire en C_3, mais, dans les faits, c'est la liaison en C_5 qui se produit. On devrait dire en $_{5'}$ car la nomenclature conventionnelle est $_1$, $_2$, $_3$... pour la base azotée, mais $_{1'}$, $_2$, $_{3'}$... pour le sucre du nucléoside. Les nucléotides sont des acides forts. Ce sont, par exemple, les acides adénylique, guanylique, thymidylique, etc. Les molécules peuvent être mono-, di- ou triphosphoriques. On utilise des sigles pour les désigner.

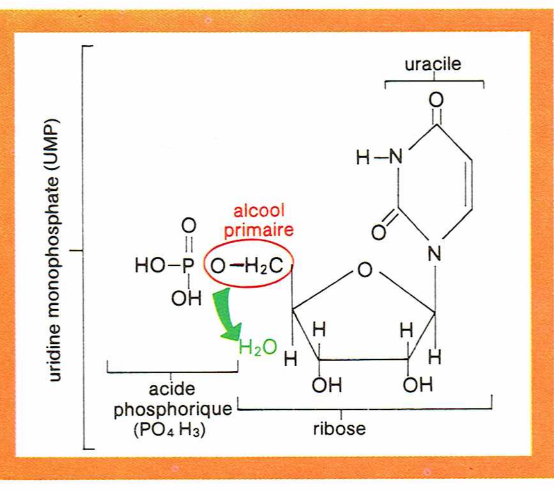
Citons, dans le cas de l'adénine : l'adénosine monophosphate (AMP), l'adénosine diphosphate (ADP), et l'adénosine triphosphate (ATP).

Rappelons que de nombreux nucléotides (particulièrement l'ATP) ont un rôle direct à jouer dans le métabolisme. De plus, ils sont à la base de molécules plus complexes, à rôles variés; par exemple, l'uridine-diphospho-glucose (UDPG) détermine le métabolisme du glycogène; quant aux fonctions de NAD ou de FAD, elles ont été évoquées lors de l'étude des enzymes et des coenzymes. Autrement dit, le pool de précurseurs des acides nucléiques fournit des pièces pour divers mécanismes biochimiques, dont la glycolyse et la

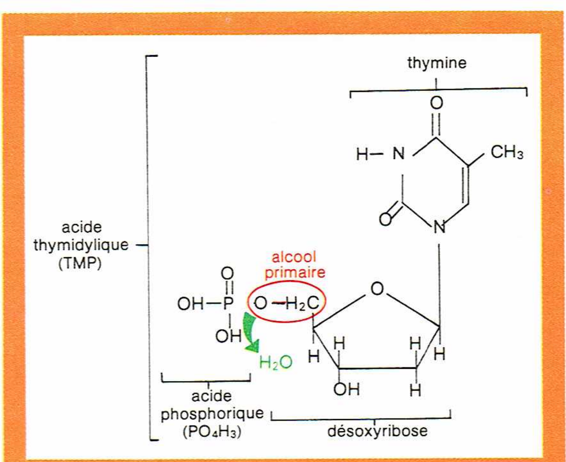


Richard Colin

◀ *Un* **nucléotide** *(ici,* **un désoxyribonucléotide)** *est formé par estérification d'un* **nucléoside** *par l'acide phosphorique.*



Richard Colin



Richard Colin

◀ *A gauche, formule d'un autre nucléotide :* **l'acide thymidylique** *(TMP). A droite,* **l'uridine monophosphate** *(UMP), l'un des éléments essentiels des ARN. L'uracile est la base « complémentaire » de l'adénine.*

respiration sont les plus remarquables. Les molécules d'acides nucléiques sont de hauts polymères des nucléotides.

Structures et fonctions des acides nucléiques

Il nous a paru important d'indiquer par quels moyens on est parvenu à connaître les fonctions des acides nucléiques. Nous utilisons, notamment, les éléments fournis par S. Meryl Rose (1970) ainsi que les mises au point de Watson et de Durand.

ADN et nature des gènes

L'étude des acides nucléiques est également celle de la nature et du fonctionnement des *gènes*.

La notion de gène

On sait que le moine Mendel publia en 1866 les résultats de ses expériences sur des pois : il montra comment s'effectue la répartition des caractères parentaux dans la descendance. Mais ses travaux n'eurent à cette époque aucun retentissement. Vers 1870, Miescher découvrit les acides nucléiques, sans qu'il soit possible d'effectuer aucun lien avec les travaux de Mendel, lesquels étaient pratiquement oubliés. Il fallut attendre le début du XX[e] siècle pour que l'on exhumât les conclusions de Mendel.

En 1902-1903, W.S. Sutton, alors qu'il était encore étudiant, constata que les cellules sexuelles contiennent deux fois moins de chromosomes que les cellules dont elles proviennent. C'était là une confirmation morphologique, au niveau cellulaire, des travaux de Mendel ; en effet, ces résultats impliquaient que chaque cellule sexuelle contenait la moitié de l'information génétique. A la même époque, Boveri montra de manière brillante que des anomalies du nombre des chromosomes entraînent la formation d'animaux anormaux. En d'autres termes, Boveri faisait dépendre la croissance harmonieuse de facteurs contenus dans les chromosomes. Mais de quels facteurs s'agissait-il ? De protéines ou d'acides nucléiques ? Il fallut attendre 1943-1950 pour le savoir. Entre-temps, bien des chercheurs entreprirent l'étude détaillée des chromosomes, et les généticiens multiplièrent les observations pour tenter de résoudre la question. Les matériels biologiques employés furent extrêmement divers ; Boveri, par exemple, travaillait sur l'œuf d'oursin, matériel encore très utilisé car il est très pratique. Cependant, il y a mieux, puisque l'étude des Bactéries a permis les progrès très récents d'une biochimie qui nous touche à plus d'un titre.

Toujours en 1902, C. E. Mac Clung découvrit que l'homme possède deux chromosomes sexuels de forme différente ; en liant ce résultat à celui de Sutton, Mac Clung put estimer que, dans un spermatozoïde, l'un de ces chromosomes devait induire la naissance d'un mâle, alors que l'autre, contenu dans un second spermatozoïde, permettait la naissance d'une femelle. Chacun de ces chromosomes contenait donc une *information génétique,* responsable de la détermination du sexe d'un embryon.

En 1910, T. H. Morgan publia des résultats tout à fait extraordinaires mais qui, à cette époque, furent très généralement méprisés. Avec ses élèves, il montra que la répartition entre les descendants des caractères biologiques parentaux dépend directement de la *structure* des chromosomes. Pour cela, il utilisait la drosophile, une petite mouche très commune, ou mouche du vinaigre, que l'on trouve aussi très fréquemment sur les fruits trop mûrs, et qui présente l'avantage de ne posséder qu'un tout petit nombre de chromosomes. Dans la descendance de ces mouches prolifiques, en étudiant des caractères

pris deux à deux, Morgan constata que certains se comportaient indépendamment, comme s'ils étaient portés par des chromosomes différents, alors que, par contre, il existait des groupes de caractères liés, donc « installés » sur le même chromosome. Cela revenait à dire qu'*un chromosome est fait d'éléments disposés de manière extrêmement rigoureuse, chaque « élément chimique de base » correspondant à un gène dont dépend un caractère morphologique ou biochimique précis.* Cette idée, qui nous paraît logique, fut très mal accueillie lorsqu'elle fut émise.

Morgan remarqua un autre fait essentiel : les chromosomes d'une même *paire* peuvent échanger des gènes. Autrement dit, une portion d'un chromosome peut prendre la place de la portion homologue du chromosome de la même paire. On donna le nom de *crossing-over* à ce phénomène, qui se produit, dans les cellules sexuelles femelles, au moment de la formation de l'ovocyte, c'est-à-dire juste avant la formation de cellules contenant deux fois moins de chromosomes que les cellules originelles.

En 1913, grâce à la notion de crossing-over, Sturtevant put déterminer l'espacement relatif des gènes (nous dirions maintenant la longueur des tronçons de molécule correspondant à un gène donné). En comparant les fréquences des crossing-over entre chacun des gènes pris deux à deux, Sturtevant et Morgan établirent des *cartes génétiques*. Ces résultats étaient d'une extrême importance. Mais il fallut attendre les années 1930-1935 pour que les biologistes acceptassent le travail de Morgan et de ses collaborateurs. Pourtant, ainsi que le remarquait récemment J. Rostand, ces travaux auraient dû susciter bien des enthousiasmes. Certes, dès l'abord, nombre de jeunes chercheurs se passionnèrent pour de telles découvertes, mais il n'en fut pas ainsi pour la plupart des « maîtres », comme les nomme G. Duhamel.

La nature d'un gène

On pensait, du temps de Morgan, que les gènes étaient de nature protéique, ce qui ne favorisait pas la compréhension du rôle des acides nucléiques...

Le travail d'Avery, Mac Leod et Mac Carty fut une étape décisive : en 1944, ces auteurs montrèrent que des ADN extraits de souches bactériennes peuvent modifier la structure de certaines autres souches et leur donner certains de leurs caractères. Avant eux, Griffith, en 1928, avait préparé la voie en publiant certains résultats fort troublants qui montraient que des Bactéries atténuées pour la vaccination pouvaient modifier les caractères d'autres souches bactériennes : « quelque chose » passait des Bactéries inactivées aux Bactéries actives, quelque chose dont la nature devait être déterminée. Avery et ses collaborateurs cherchèrent alors systématiquement l'agent transformateur.

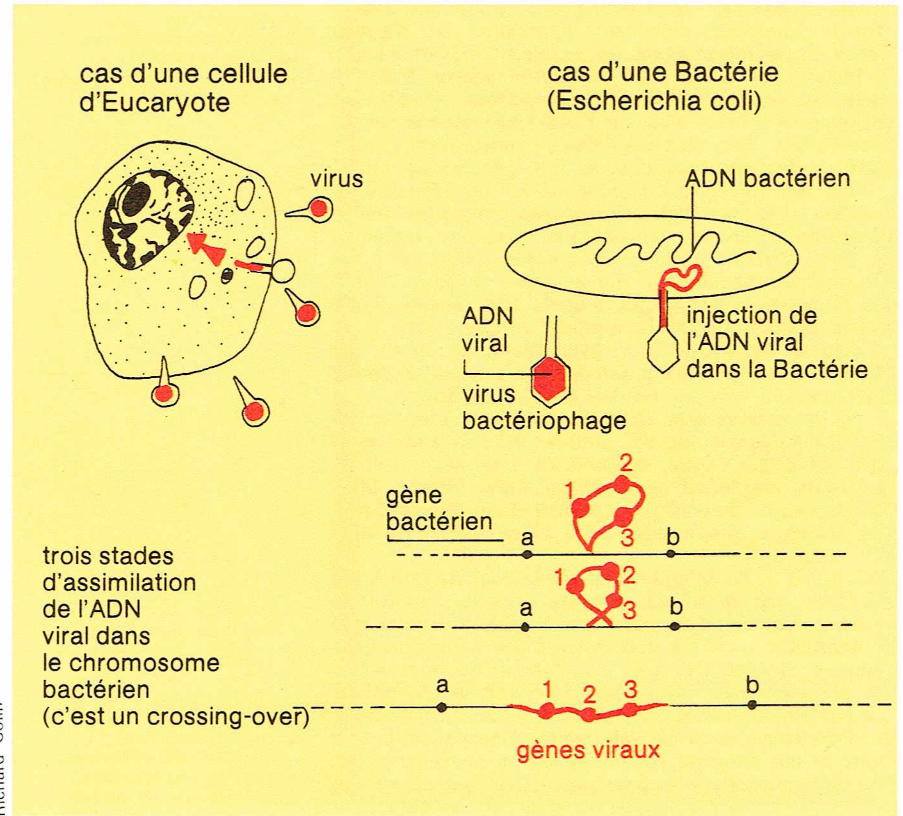
A partir de ce moment, on assista au mûrissement du problème, et bien des travaux (ceux de Mirsky, Pollister et Swift) permirent de confirmer et de généraliser les conclusions d'Avery. Les résultats les plus frappants furent sans doute ceux des virologistes (Hershey et Chase, 1952), qui, travaillant avec des virus à ADN, montrèrent que seule la molécule d'acide nucléique pénètre dans la cellule parasitée par le virus, alors que le manteau protéique reste à l'extérieur. En 1953, Lwoff parvint à prouver que l'ADN viral se mêle à celui de l'hôte, ce qui fut confirmé en 1958 par Zinder et en 1960 par Lederberg : l'information génétique permettant la multiplication ultérieure du virus au sein de la cellule hôte est portée par l'ADN seul. Mais il y a des virus à ARN, dépourvus d'ADN; on a constaté que l'ARN est aussi porteur d'information génétique. Donc, il fallait envisager les rapports entre les différents types d'acides nucléiques.

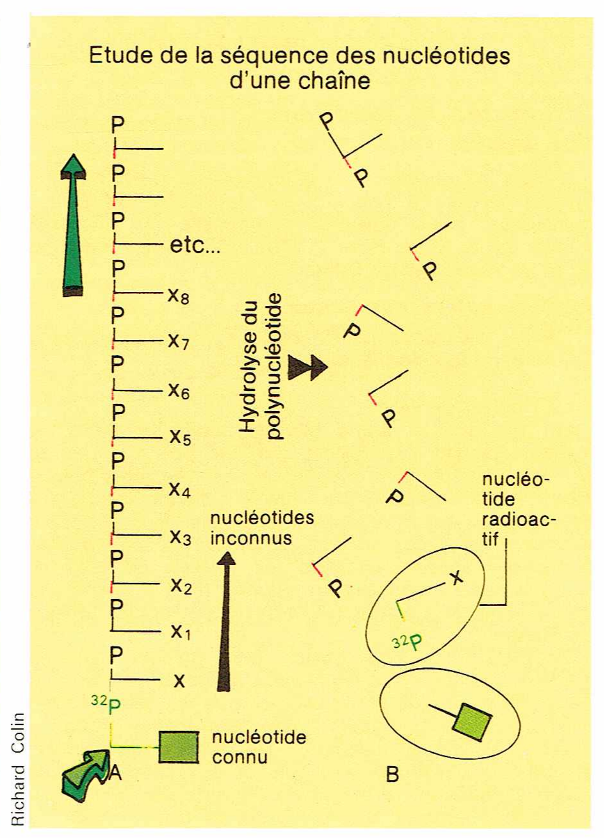
Les structures de l'ADN

Il faut d'abord envisager la structure primaire, puis étudier les niveaux d'organisation plus complexes.

— *Structure primaire de l'ADN*. Sa détermination n'est pas simple, car on ne peut pas couper le bout des chaînes, comme cela se fait pour les protéines. Chaque élément est un nucléotide : il s'agit donc d'une longue *chaîne de polynucléotides* (Watson et Crick, 1953) : il y a estérification entre la fonction alcool en C_3 de l'un des nucléotides et l'acide phosphorique d'un autre.

L'hydrolyse enzymatique ne pose pas de problèmes techniques. On obtient des polynucléotides plus petits, que l'on fragmente ensuite en effectuant une ségrégation méthodique des portions obtenues, ou *oligo-nucléotides,* de taille de plus en plus petite. Un tel fractionnement progressif de l'ADN fournit un « énorme puzzle » qui, ainsi que le fait remarquer Durand, est extrêmement difficile à manipuler et à mettre en ordre ! Tout se complique aussi pour les organismes supérieurs, car on ne sait pas combien chaque noyau peut contenir de molécules d'ADN...





▼ *A gauche, représentation schématique de l'infection virale et de l'incorporation de l'ADN viral à l'ADN de l'hôte. A droite, principe de détermination du nucléotide terminal d'une chaîne en formation : A, liaison d'un nucléotide radioactif (^{32}P) et d'une chaîne de polynucléotides en cours de synthèse; B, après hydrolyse, chaque nucléotide entraîne le phosphore du nucléotide suivant. Ensuite on chromatographie.*

estérification de la fonction alcool secondaire en 3'

bases caractéristiques

liaison avec un 3e nucléotide

Richard Colin

En simplifiant beaucoup, le schéma page 122, fait d'après les travaux de Josse, Kaiser et Kornberg (1961), explique plus précisément quel est le principe d'une des méthodes d'analyse du nucléotide terminal.

Puis on recommence avec un autre polynucléotide afin de déterminer leur degré d'identité ; c'est donc une méthode comparative. Cela laisse entrevoir l'énormité de la tâche et l'extrême patience des chercheurs qui voudraient parvenir à établir une séquence nucléotidique ; par exemple, le bactériophage T_2 (virus) possède une seule molécule d'ADN comportant déjà 200 000 nucléotides. L'analyse complète serait donc une véritable besogne expiatoire. En fait, il semble qu'il soit encore bien difficile de parvenir à la connaissance des séquences. On ne dispose pas d'une technique adéquate véritablement pratique.

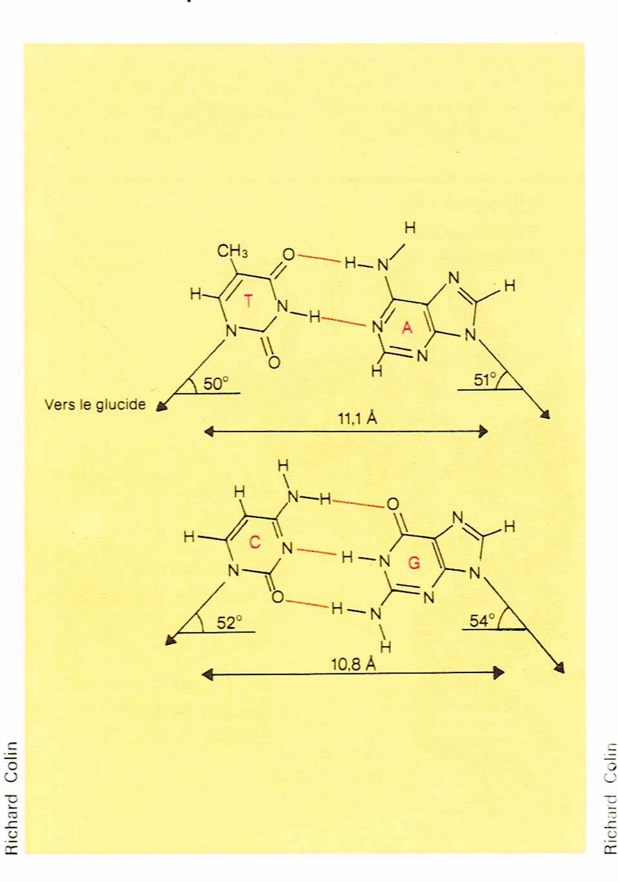
— *Structure secondaire de l'ADN*. Dès les années 1950, les spécialistes virent que la fibre d'ADN était constituée de *deux éléments accolés*. En 1953, grâce à une technique cristallographique, Watson et Crick purent montrer l'existence de ces deux chaînes. Tenant compte des résultats d'autres chercheurs, en particulier de ceux de Wilkins et Franklin, ils en vinrent à concevoir la molécule d'ADN comme une *double hélice* : on aurait alors deux chaînes antiparallèles constituées de phosphates et de désoxyriboses alternés et portant *latéralement* les bases azotées. Depuis 1953, tout porte à croire que cette *structure secondaire* est une réalité. La solidité de la double hélice est assurée par des *liaisons hydrogène* entre les bases. Watson et Crick donnent donc un modèle qui ressemble à un escalier en colimaçon dont les marches seraient les bases azotées. L'importance d'un tel modèle, qui a valu le prix Nobel à ses inventeurs, est considérable : tous les mécanismes de la synthèse protéique en dépendent étroitement.

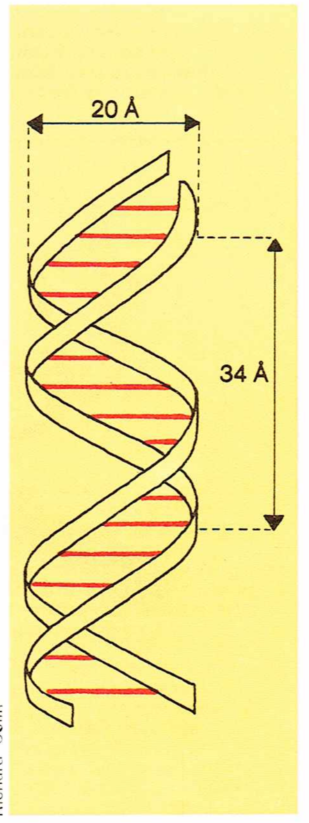
◀ ***En haut, mode de liaison de deux nucléotides ; un* polynucléotide *est formé de nucléotides disposés suivant la ligne figurée en rouge. En bas, représentation schématique d'une chaîne de nucléotides (en rouge, liaisons ester).***

▼ ***A gauche, mode d'*appariement *des bases placées face à face dans la double hélice : en orangé, les liaisons hydrogène ; N et O jouent le rôle de donneurs d'électrons pour H (d'après Watson). A droite, structure schématique de l'ADN : les brins sont disposés suivant deux* hélices *; en orangé, les liaisons hydrogène établies entre les* bases *des nucléotides placés face à face.***

flêchés : les points remarquables

Richard Colin





Mais il faut dire que l'on avait déjà pressenti l'existence d'une structure complexe de l'ADN. Ainsi, l'ADN, extrait avec maintes précautions, et que l'on peut considérer comme natif, possède, ainsi que le fait remarquer Durand, « une densité et une viscosité incompatibles avec l'existence d'une fibre simple, unique, complètement étendue ». Mieux : certaines fonctions des nucléotides, à savoir NH_2 et CO—NH, sont masquées dans l'ADN (Gulland et Jordan, 1947). Il était donc logique de penser que ces fonctions étaient engagées dans des liaisons stables ; en effet, on ne pouvait les rompre qu'en milieu très acide ou très alcalin. De plus, des mesures de spectres dans l'ultraviolet montrent que les valeurs obtenues s'éloignaient sensiblement de celles que les spécialistes pouvaient attendre en tenant compte du nombre d'atomes de phosphore, donc de nucléotides, de la molécule. Par contre, les résultats sont en accord avec ce nombre si l'on soumet l'ADN natif à des traitements drastiques tels qu'un chauffage à 100 °C ou un traitement ionique (R. Thomas, 1953). Or on savait que ces expériences modifiaient les structures secondo-tertiaires ; on avait donc affaire à une *dénaturation* des acides nucléiques. Il devenait alors nécessaire de déterminer le type de structure secondaire de ces molécules.

C'est là qu'intervinrent Wilkins, puis Watson et Crick. Comme pour la structure des protéines, l'étude des diagrammes de diffraction des rayons X a permis de se faire une image de la molécule ou, du moins, d'une portion de celle-ci (la molécule n'est pas homogène). La distance qui sépare les bases est régulière et de l'ordre de 3,4 Å ; ce sont des éléments hydrophobes des acides nucléiques ; ces bases ont alors tendance à se rapprocher en milieu aqueux, donc dans la cellule vivante ; ce caractère augmente, bien entendu, la stabilité des liaisons hydrogène qu'elles établissent d'une hélice à l'autre.

La *disposition des bases* placées face à face n'est pas quelconque. Cela pouvait être déduit des constatations faites par Chargaff entre 1951 et 1955 : l'analyse de l'ADN de différents micro-organismes montre en effet que le *rapport purine-pyrimidine* est toujours très voisin de 1. Avec ses élèves, ce chercheur rejeta l'éventualité d'une coïncidence. De multiples analyses lui montraient qu'il s'agissait là d'un fait d'ordre général. Mieux encore, le rapport 1 existe aussi entre l'adénine (A) et la thymine (T) ou entre la guanine (G) et la cytosine (C). Un appariement de l'adénine et la thymine comme de la guanine et la cytosine parut donc extrêmement vraisemblable pour Chargaff. Ces résultats remarquables furent confirmés par Wyatt, qui montra que le rapport A/T est le même pour onze virus d'Insectes.

Le Rubicon était franchi. L'existence de cette structure primaire-secondaire dans laquelle les bases sont réparties de manière équilibrée permettait de concevoir le mode de reproduction de la molécule d'ADN. Watson et Crick purent en conclure que, lors de la multiplication cellulaire, au moment de la *réplication* de l'ADN, *chaque hélice originelle, complémentaire de l'autre, attire, dans le bon ordre, les éléments d'une hélice complémentaire nouvelle.* Cette idée constituait une révolution que Morgan eût accueillie avec allégresse. Les confirmations ne tardèrent pas à se multiplier.

Par exemple, entre 1957 et 1958, Taylor, Woods et Hughes ainsi que Meselson et Stahl procédèrent à des marquages chromosomiques par des traceurs radioactifs ; à la première division des cellules marquées, chaque hélice originelle des chromosomes était fortement marquée, mais pas l'hélice néoformée. Il s'agissait là d'une confirmation éclatante des déductions de Watson et Crick : on parle d'une *reproduction semi-conservatrice* de la molécule d'ADN. Outre le cas de la Bactérie *Escherichia coli,* cette reproduction a été démontrée dans les cellules d'organismes Eucaryotes, à noyaux typiques (Peacock, 1963 ; Prescott et Bender, 1963 ; Taylor et coll.).

Dès lors, on se demanda si la réplication se faisait à partir d'un point privilégié de la molécule, donc du chromosome. A cet égard, les résultats ont été très différents suivant le matériel biologique : il semble, en fait, que le clivage et la réplication des deux hélices originelles ne soient pas directement comparables à l'ouverture d'une fermeture à glissière. Dans un chromosome, l'incorporation d'un précurseur marqué « se poursuit autour de multiples foyers localisés » (Odartchenko, 1968). Selon Denis (1974), chez un Amphibien, le xénope, il y aurait 15 000 points d'initiation sur un brin d'ADN.

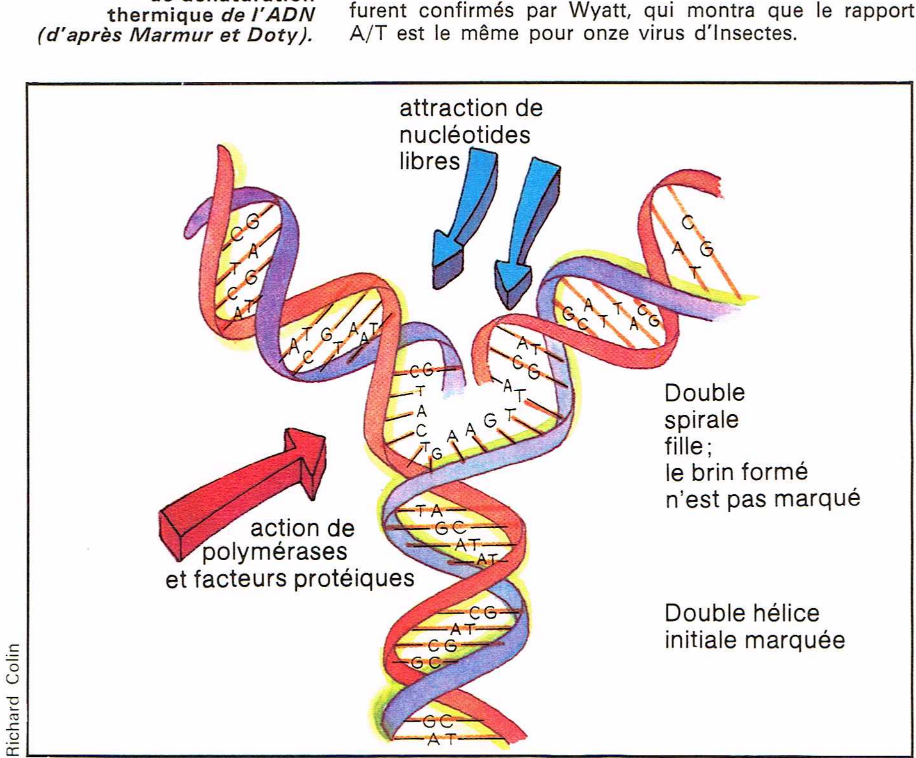
— *Structure tertiaire de l'ADN.* Dupraw tenta de *voir la molécule d'ADN* en utilisant une technique très subtile : il provoquait l'étalement d'une molécule d'ADN à la surface d'un liquide. Il montra, en 1965-1966, que l'ADN peut posséder une *structure tertiaire très repliée.* Mais il semble que l'on ne connaisse pas la disposition de la ou des molécules d'ADN dans un chromosome.

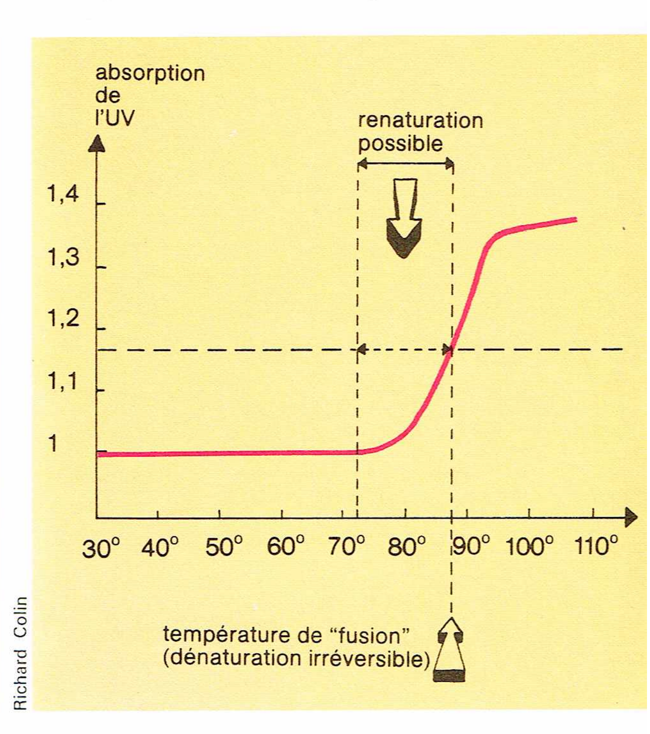
Remarques utiles pour comprendre le mode d'action de l'ADN

— *L'ADN est-il identique dans toutes les cellules somatiques d'un individu ?*

La cellule œuf contient de l'ADN qui se reproduit, identique à lui-même, dans toutes les cellules filles somatiques ; seules les cellules germinales sont diffé-

▼ *A gauche, principe de* formation *de l'ADN à partir de chacun des* brins *initiaux ; reproduction semi-conservatrice (d'après Stent). A droite, courbe de* dénaturation thermique *de l'ADN (d'après Marmur et Doty).*





rentes puisque, nous l'avons vu, celles-ci comportent la moitié du matériel chromosomique somatique. L'identité de l'ADN est qualitative et quantitative. *C'est un postulat,* qui semble être admis de manière générale sans qu'il existe, toutefois, de preuves directes formelles.

On considère comme preuves indirectes de cette identité les faits suivants : la sédimentation *in vitro* de l'ADN des différents tissus d'un même animal se fait de la même manière (Kit, 1963) ; les cellules d'un même individu ont un ADN nucléaire dont la composition en bases paraît être identique (Hoyer, Mac Carthy et Bolton, 1964) ; *in vitro,* l'activité chimique de l'ADN de différentes cellules somatiques d'un même individu paraît être la même (Mac Carthy, 1966).

Les expériences de *dénaturation* puis de *renaturation* paraissent être fort intéressantes. On sait que la dénaturation de l'ADN se fait à chaud, au-dessus de 85 °C. Elle permet le clivage des deux hélices de la molécule et leur déspiralisation. Lorsque cela se produit, les propriétés physiques de l'ADN se modifient ; ainsi, le spectre d'absorption en lumière ultraviolette est augmenté de 40 % par rapport à l'ADN natif (Marmur, Lane et Doty, 1960). Or, la température de dénaturation (encore appelée *température de fusion*) de l'ADN dépend de l'espèce vivante à laquelle on s'est adressé : si la molécule est riche en guanine et cytosine, dont l'appariement se fait par 3 liaisons hydrogène, la température de fusion est supérieure à celle qui convient pour une molécule comparativement plus riche en adénine et thymine, bases qui n'établissent entre elles que 2 liaisons. De même, le spectre UV de l'ADN dénaturé est également caractéristique d'une espèce et, semble-t-il, d'un individu.

Un ADN dénaturé peut être renaturé si on réduit lentement la température ; la dénaturation peut donc être un phénomène réversible (Marmur et Doty, 1962). Mais la renaturation n'est vraiment totale que dans le cas de l'ADN bactérien, où deux hélices libérées sont en fait *parfaitement complémentaires* et peuvent ainsi s'accoler sur toute leur longueur. La recombinaison est incomplète chez les Eucaryotes dont les molécules d'ADN, issues de cellules différentes, sont imparfaitement complémentaires ; on dit qu'il y a *hybridisation imparfaite ;* on peut donc penser que les cellules d'un Eucaryote, dont les molécules d'ADN dénaturé se recombinent mal, possèdent plusieurs ADN nucléaires plus ou moins différents. Cela oblige à reconsidérer le postulat évoqué au début de ce paragraphe. Nous y reviendrons dans un autre chapitre.

— Les structures de la molécule d'ADN sont-elles les mêmes chez tous les êtres vivants ?

Nous avons donné un aperçu des structures primaire et secondaire de l'ADN et précisé que l'on devait envisager l'existence d'une structure tertiaire. Mais il semble que, pour l'instant, les techniques d'extraction soient encore trop violentes pour qu'il soit possible de déterminer cette structure ; en effet, une simple agitation de l'extrait ou le prélèvement à la pipette provoque une fragmentation des chaînes d'ADN.

Pourtant, des constatations génétiques et des observations en microscopie électronique faites sur des virus (Weil et Vinograd, 1963) ou sur des Bactéries (Cairns, 1963) permettent de dire que les chaînes de l'ADN des micro-organismes peuvent présenter une disposition circulaire. En 1965, Hotta et Bassel ont même décrit une structure du même genre dans le cas du blé et de cellules de Mammifères ; une partie de l'ADN extrait des cellules de divers Eucaryotes se présente effectivement sous une forme circulaire. Il s'agit de l'ADN mitochondrial.

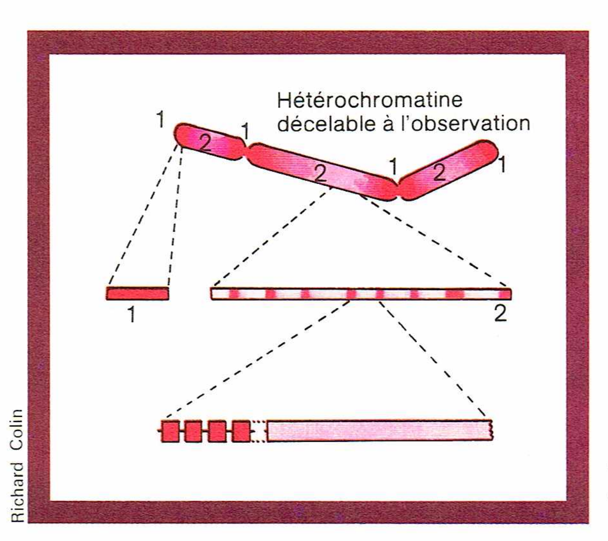
— La structure primaire n'est pas homogène d'un bout à l'autre de la molécule.

Bien sûr, on ne connaît pas dans le détail la succession des innombrables nucléotides d'une séquence : on connaît seulement des portions de molécules. Cependant, on constate que certaines d'entre elles représentent des gènes, alors qu'il en existe d'autres, de nature différente, qui doivent avoir d'autres fonctions. En fait, l'hétérogénéité de la molécule d'ADN peut être constatée par l'étude cytologique des chromosomes et par l'analyse chimique de séquences.

L'observation des chromosomes montre qu'ils comportent des portions de colorabilité différente : l'*hétérochromatine,* très colorable durant tout le cycle cellulaire, et l'*euchromatine,* peu colorable sauf au moment de la multiplication cellulaire. La notion d'hétérochromatine fut établie par Heitz en 1933 ; elle représente une discontinuité dans la structure du chromosome.

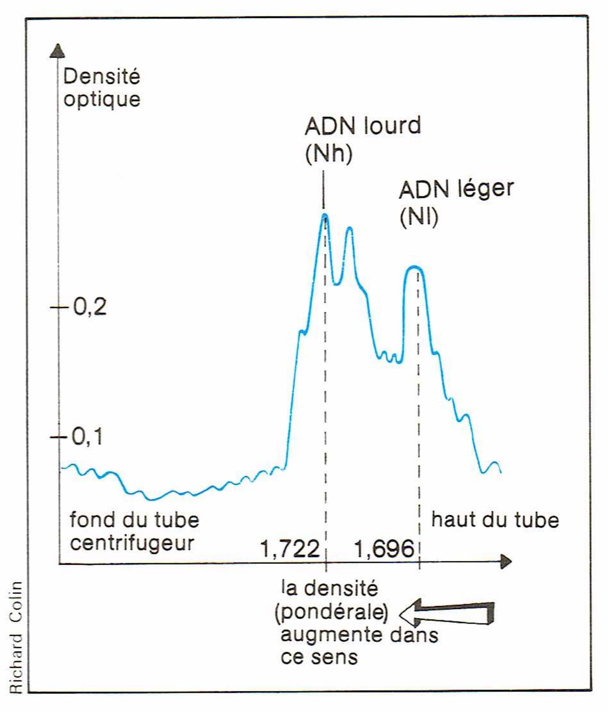
Par ailleurs, vers 1961, l'analyse de l'ADN nucléaire a montré qu'il existe un *ADN principal* et un *ADN satellite* dont les caractères physico-chimiques sont particuliers. Si l'hétérochromatine est une discontinuité structurale visible, le satellite est la preuve d'une hétérogénéité biochimique. Diverses méthodes ont été employées pour découvrir et étudier ce satellite, la plus spectaculaire étant sans doute celle d'*ultracentrifugation analytique.* On connaît le principe de la centrifugation à grande vitesse, ou ultracentrifugation ; chaque molécule à centrifuger subit une force centrifuge qui peut atteindre 300 000 g (g correspondant à la pesanteur terrestre). Dans le cas présent, il s'agit d'une centrifugation *isopycnique,* ou à *équilibre de densité.* On centrifuge à grande vitesse le mélange d'une solution d'un sel lourd, le chlorure de césium ClCs, et d'une solution contenant l'ADN à étudier ; les molécules de ClCs migrent, et leur concentration augmente progressivement vers le fond du tube centrifugeur : on a un *gradient de ClCs ;* de même, les molécules d'ADN migrent sous l'action de la force centrifuge ; si elles n'ont pas toutes le même poids moléculaire, leur migration s'effectue *avec la tranche de solution de ClCs,* dont elles possèdent la densité (méthode isopycnique).

On peut alors effectuer une analyse optique de la répartition des ADN dans le gradient de ClCs ; cette

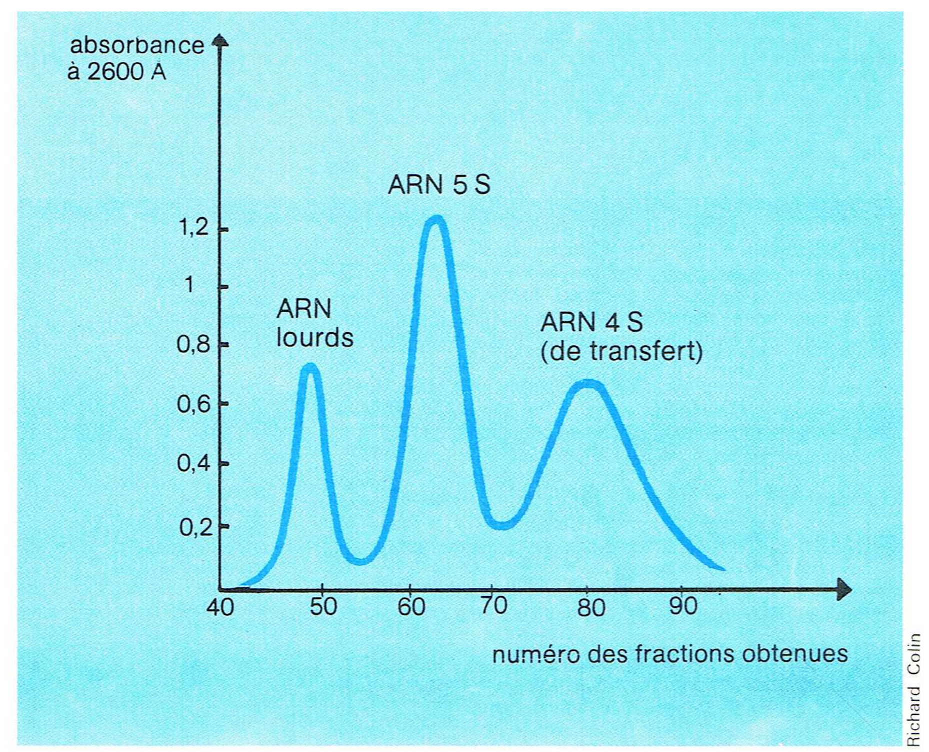


B. Stevens

▲ *A gauche, schéma de distribution des séquences répétées de l'ADN dans le génome des Eucaryotes : 1, régions privilégiées constituées par un ADN hautement redondant ; 2, régions contenant un ADN moyennement redondant et réparti par bandes, indiscernables en microscopie. (d'après Guillé et Quétier). A droite, ADN purifié extrait de mitochondries isolées du foie de rat (Sinclair et Stevens). Les molécules, circulaires, ont une longueur d'environ 5 µ ; plusieurs d'entre elles ont la forme torsadée, et l'une, la forme dite ouverte (microscope électronique).*



◀ *Courbe d'analyse en gradient de ClCs d'un mélange d'ADN extraits du noyau (germinations de 11 jours de graines de Cucumis) ; le pic d'ADN lourd n'apparaît qu'à certains stades de la germination des Dicotylédones (Guillé) : il correspond à un ADN satellite, riche en G + C ; l'autre pic correspond à l'ADN principal (Nl) [d'après Fasquel].*



▲ *Mise en évidence des ARN dans l'ovocyte de xénope (début de maturation) : l'ARN extrait des cellules est fractionné par chromatographie sur colonne. L'adsorbant utilisé (Sephadex) permet un tri des molécules en fonction de leur taille; la courbe est établie par dosage photométrique. Absorbance = degré d'absorption d'un faisceau de lumière monochromatique par la substance que l'on étudie; les ARN-4 S sont très abondants (d'après Denis).*

elle n'est active qu'en présence de facteurs protéiques, permettant, en particulier, l'*initiation* et la *terminaison* des chaînes d'ARNm, mais qui pourraient aussi *« choisir »* les portions de chaînes d'ADN à transcrire. Chez les Eucaryotes, il existe au moins trois types d'ARN polymérases (Chambon). Les conditions d'activité de ces enzymes sont peu connues. Il est possible de bloquer expérimentalement la synthèse d'ARN messager grâce à un antibiotique, l'*actinomycine D*.

Il est possible de détecter la synthèse nucléaire d'ARNm et d'observer ce que devient celui-ci. En 1964, Prescott, en ajoutant à des cultures de Protozoaires de la cytidine (cytosine plus ribose) marquée au tritium (^3H), put obtenir une réaction nucléaire positive. Voici une description rapide de cette expérience. Les Protozoaires employés étaient des *Tetrahymena pyriformis*, espèce assez voisine de la paramécie. Placés pendant quelques minutes dans le milieu marqué, ils furent ensuite prélevés et fixés rapidement. On en effectua alors des coupes fines qui furent montées sur des lames de verre puis recouvertes d'une émulsion de type photographique *sensible aux électrons* libérés par le tritium de la cytidine. Après une exposition de plusieurs semaines, les coupes (et l'émulsion superposée) furent alors colorées, observées au microscope et photographiées. Ces photographies permirent d'observer des grains noirs d'argent dans le noyau et au voisinage immédiat du noyau de *Tetrahymena*. Ce résultat confirme l'idée que l'ARNm se forme au contact des chromosomes.

On peut aller plus loin dans l'analyse : si, après le marquage, on replace les animaux dans l'eau et si on les fixe seulement 1 h 30 après ce changement de bain, on constate, sur des coupes préparées comme précédemment, que les grains d'argent ne sont plus visibles dans le noyau, mais qu'ils sont presque tous accumulés dans le hyaloplasme. Cette technique, dite d'*histo-autoradiographie*, permet donc d'affirmer qu'il y a eu *migration* de l'ARN à travers la membrane nucléaire : le travail de synthèse protéique s'effectue dans le hyaloplasme. C'est là un point capital.

Les ARNm formés ne se trouvent pas en grandes quantités dans la cellule. D'après Odartchenko, ils ne représentent que 2 % de l'ARN total d'une Bactérie (il y aura donc lieu de s'intéresser à la nature et au rôle des autres ARN). Toutefois, les ARNm sont la clé des synthèses correctes. La durée de vie d'un ARNm est très courte chez les micro-organismes (quelques minutes), tandis qu'elle peut être fort longue chez les Eucaryotes évolués, tels que les Oiseaux ou les Mammifères; ces faits furent mis en évidence grâce à l'actinomycine D, qui, bloquant la synthèse d'ARNm, n'empêche cependant pas les synthèses protéiques : il existe donc, au moins dans certaines cellules, des *réserves* d'ARNm qui permettent ces synthèses (Revel et Hiatt, 1964; Humphreys et coll., 1964; Scott et Bell, 1965, etc.). Cela est très frappant dans le cas de bien des œufs d'Invertébrés qui, semble-t-il, portent dans leur hyaloplasme toute l'information génétique nécessaire aux premières étapes de formation de l'embryon (Reverberi, 1964-1965).

Il est possible d'extraire des ARN messagers, mais cela n'est pas facile. Le phénol permet une extraction de tous les ARN : il précipite les protéines mais laisse les ARN en solution; par centrifugation à froid dans un gradient de saccharose, on obtient une lente ségrégation des ARN cellulaires de poids, donc de longueurs, différents. On détermine alors leur ***coefficient de sédimentation,*** qui se mesure en unités Svedberg (S); ils se répartissent ainsi en trois groupes essentiels :

ARN 26-28 S (ARN lourd) ou 23 S des Bactéries
ARN 18 S ou 16 S des Bactéries
ARN 4 S

Où sont les ARNm? Malheureusement, ils ne représentent qu'une petite partie de l'ensemble et leur étude est extrêmement difficile. Burny et Chantrenne (1964), Burny et Marbaix (1965) ont isolé un ARN 9 S, messager responsable de la synthèse d'hémoglobine chez le lapin. La méthode d'extraction est due à Huez et ses collaborateurs, et l'étude de la composition en bases de cet ARN à Kruh (1966); cette composition est surprenante, car on y trouve une grande abondance d'adénine (Lim et Canellakis, 1970), substance qui est apparemment inutile pour la synthèse de la chaîne d'hémoglobine... Quoi qu'il en soit, fin 1973, Brachet constatait que seul ce messager était vraiment déterminable et isolable; la même année, Guillé et Quétier firent la même constatation. Ces remarques, encore valables, montrent à quel point notre connaissance des ARNm est médiocre et fragmentaire.

D'autres résultats ont révélé que le problème est extrêmement complexe. Ainsi en 1965, Scherrer, Marcaud, Zajdela, Breckenridge et Gros ont montré que, chez le canard, les cellules de la lignée des globules rouges contiennent un autre messager, qui sédimente à 50 S. Ce résultat fut confirmé par d'autres travaux de Scherrer et ses collaborateurs (1966) et de l'équipe d'Attardi (1966). Ces auteurs considèrent cet ARN géant comme un précurseur de l'ARNm fonctionnel; cette hypothèse est actuellement acceptée (travaux sur l'œuf de xénope). Selon Georgiev, ce type de messager lourd serait ensuite fragmenté dans le cytoplasme.

La traduction.

— La traduction, ou formation d'une protéine particulière à partir d'une séquence nucléotidique, est un phénomène assez compliqué. Il faut noter, dès à présent, que les autres ARN de la cellule sont appelés *ARN ribosomiques* (ARNr) et *ARN de transfert* (ARNt). Les ARNr sont contenus dans les *ribosomes,* organites de très petite taille répartis dans le hyaloplasme; ce sont les ARN 28 S et 18 S que nous avons signalés plus haut et qui sont associés à un ARN 5 S, beaucoup moins abondant. Ces ARN ribosomiques ne peuvent fonctionner qu'avec l'aide d'ARN légers 4 S, ou ARN de transfert. Tous ces ARN sont indispensables pour la synthèse protéique.

— Pourquoi cette synthèse protéique nécessite-t-elle un matériel nucléique aussi divers? N'est-il pas concevable que l'ARNm soit directement capable d'effectuer un tri des acides aminés, qui, à son contact, se disposeraient d'une manière spécifique et dépendant seulement de la nature de sa séquence nucléotidique? En fait, cela est impossible car les acides aminés n'ont aucune affinité particulière pour les nucléotides. Par exemple, les groupements hydrocarbures de l'alanine ou de la leucine ne sont pas seulement incapables de former des liaisons hydrogène avec l'ARNm, mais sont repoussés par les bases; Watson estime que la surface des molécules d'ARNm ne se prête aucunement à l'adaptation des acides aminés. La synthèse protéique est donc très complexe et n'a rien à voir avec une adaptation directe d'acides aminés sur une matrice d'ARN contenant l'information génétique. Dans ces conditions, puisque les généticiens ont montré que les séquences de l'ADN et de l'ARN messager qui en dérive déterminent la séquence des acides aminés qui constituent les protéines, il devient évident que des *molécules adaptatrices* interviennent pour lier les acides aminés à la matrice d'ARNm. Ce mécanisme est, d'ailleurs, nettement plus rationnel sur le plan thermodynamique, puisqu'il ne nécessite pas une modification conformationnelle du groupement latéral de chacun des acides aminés, ce qui impliquerait l'entrée en action d'un nombre élevé d'enzymes.

estiment qu'il dépend d'un *gène réplicateur,* activé par une molécule protéique jouant le rôle d'initiateur (théorie du *réplicon*). Un stock de phosphate et de nucléosides constituants des quatre nucléotides de l'ADN est bien sûr indispensable, de même que l'ion Mg^{++}. Une telle synthèse peut être réalisée *in vitro,* en l'absence de tout élément « vivant ». La réplication comporte parfois des *anomalies* dont il sera question dans le chapitre « génétique ».

Remarquons qu'il existe des organismes où l'ADN ne comporte qu'*un seul brin.* Cette constatation, assez récente, a été faite chez des virus parasites de Bactéries. On s'est alors demandé comment se produit la réplication ; certains chercheurs faisaient intervenir des molécules intermédiaires, mais celles-ci n'ont jamais été mises en évidence. En réalité, l'*ADN viral,* ou *brin +,* s'incorpore au chromosome de l'hôte, dont il possède au moins une partie des séquences ; il s'ensuit la formation, suivant le principe normal, d'un *brin —* complémentaire, *puis* celle d'un nombre élevé de brins + constituant le « noyau » des particules virales qui seront ensuite libérées.

Soulignons ici l'importance des Bactéries et des virus à ADN dans l'étude des processus biochimiques et génétiques. En effet, ces organismes ne comportent qu'une seule molécule d'ADN, et l'on conçoit aisément qu'ils puissent constituer le matériel le plus simple, donc le plus pratique à étudier, d'autant que leur reproduction est extrêmement rapide. Pour *Escherichia coli,* l'ADN a un poids moléculaire de $2 \cdot 10^9$, et sa longueur totale est voisine du millimètre ; pour le chromosome du virus bactériophage T_2, la longueur est de 52 μ, taille qui permet une observation directe (Cairns). C'est à partir des virus et des Bactéries que l'on a constaté que la renaturation *in vitro* peut aboutir à des molécules circulaires.

La transcription : ADN → ARN

Les travaux de Watson et Crick, de Taylor ainsi que de Meselson et Stahl ont permis non seulement de déterminer la conformation fondamentale de l'ADN, mais aussi de comprendre de quelle façon peut se former l'acide ribonucléique (ARN). L'ARN se forme au contact de l'un des brins d'ADN du chromosome. L'ADN sert de matrice pour la mise en ordre des nucléotides qui comportent comme sucre le ribose et non plus le désoxyribose. L'ordre des bases de l'ADN détermine celui des bases de l'ARN (Doi et Spiegelman, 1962). La liaison des nucléotides se fait aussi par estérification, après que chacun d'entre eux s'est adapté à un nucléotide complémentaire de l'ADN matriciel. Mais l'ARN ne contient pas de thymine : l'adénine de l'ADN se couple avec l'uracile du futur ARN. On a donc, pour l'ARN, la formule nucléotidique AUGC (adénine-uracile-guanine-cytosine). Le mécanisme porte le nom de *transcription.*

réplication — transcription

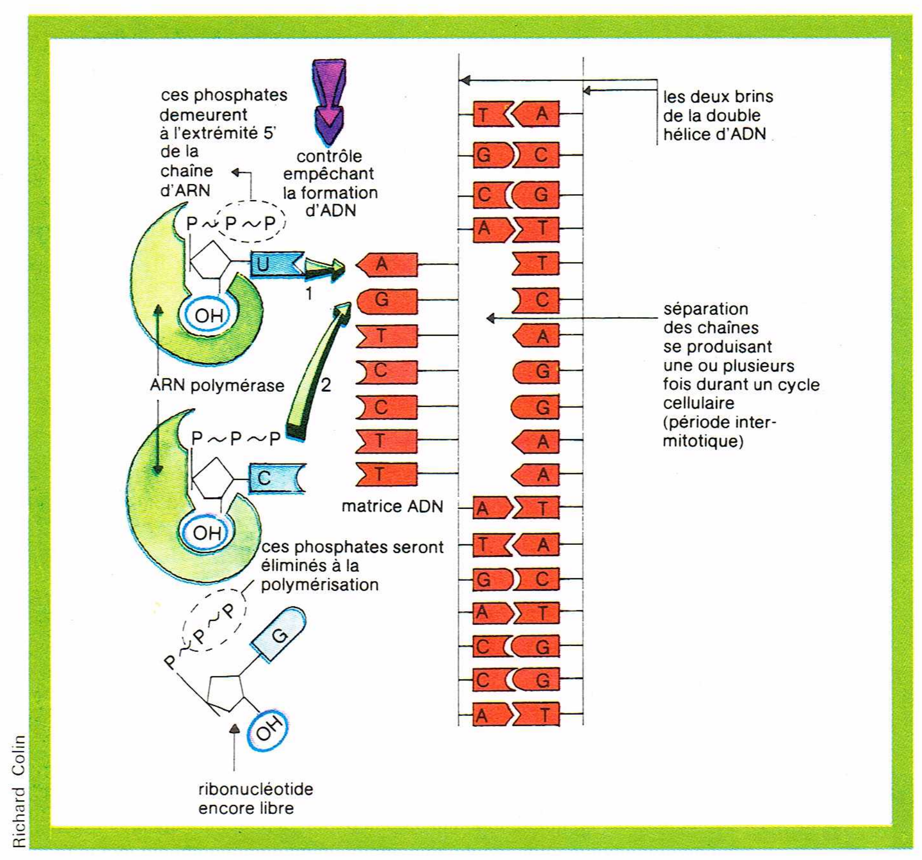
ADN ⟶ ⟶ ARN

En d'autres termes, l'ADN, qui porte l'information génétique, ne permet pas directement la synthèse de protéines : il transmet cette information à une autre molécule, l'ARN, ou plutôt à *plusieurs molécules* d'ARN qui sont le reflet de la structure de portions d'ADN. Ces substances ont des poids moléculaires essentiellement différents. Elles comportent, comme l'ADN, des portions redondantes.

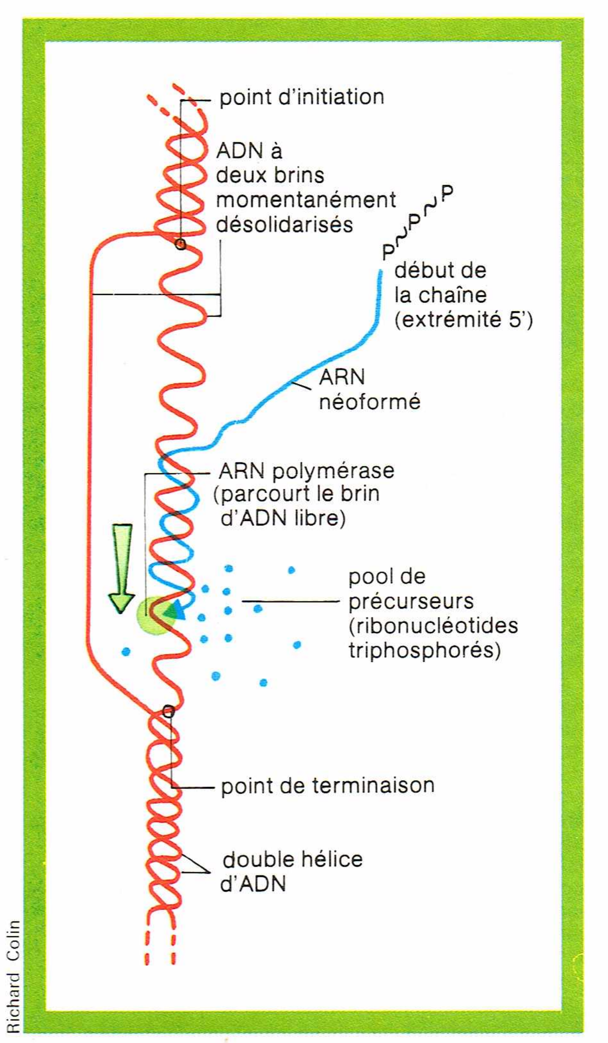
On parle ici de molécules d'*ARN messagers,* ou ARNm (Jacob et Monod, 1961). La structure primaire de l'ARN messager est très voisine de celle de l'ADN. Par contre, il n'y a pas de spiralisation régulière du brin d'ARN formé. De plus, on n'observe jamais deux brins complémentaires dans la même molécule.

Lorsqu'il existe des liaisons hydrogène entre nucléotides, ceux-ci appartiennent au même brin et sont rapprochés par reploiement de la chaîne. Certains ARN peuvent avoir une structure secondaire (voir plus loin).

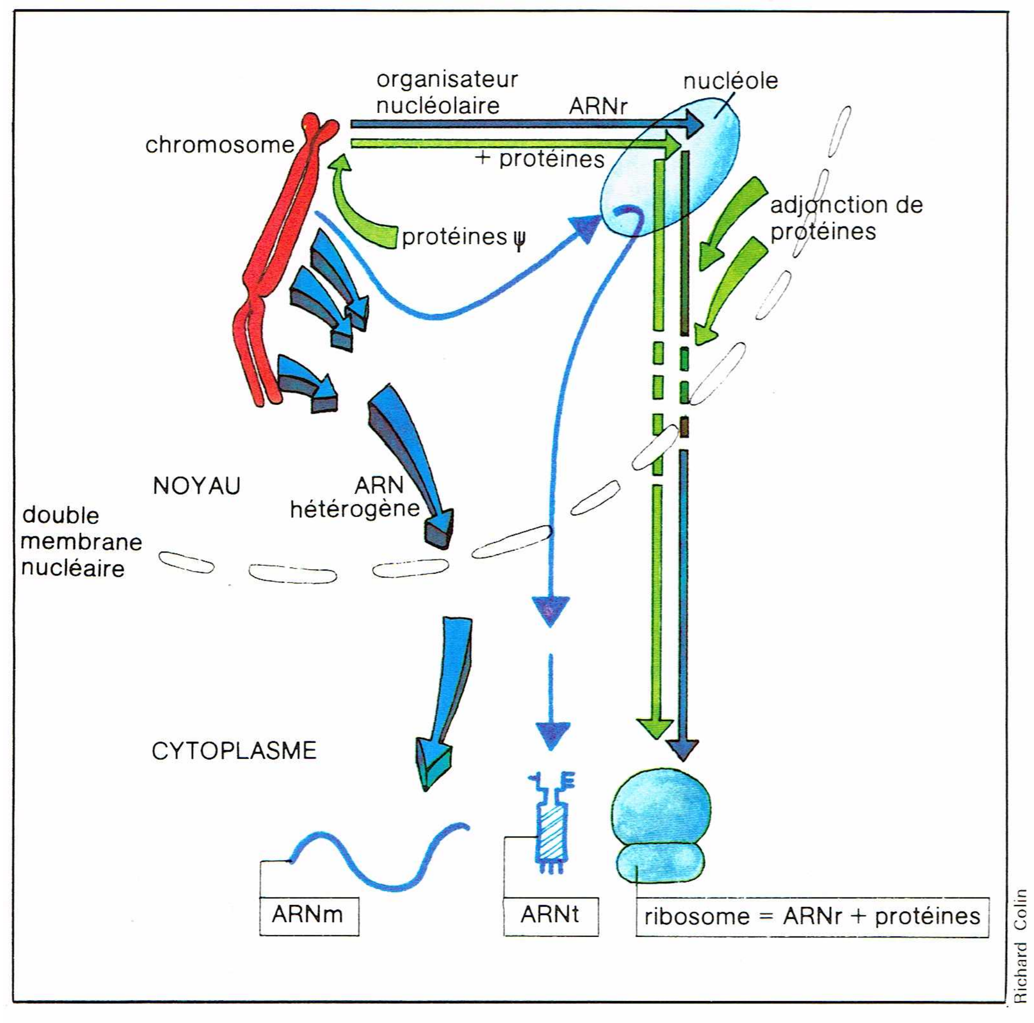
On peut se demander comment s'effectue la synthèse d'ARN messager. En effet, par quel prodige la cellule va-t-elle utiliser l'uracile et non plus la thymine ? En outre, pourquoi n'y a-t-il qu'un seul brin ? Si tout n'est pas encore éclairci, on sait néanmoins que la synthèse dépend essentiellement d'une enzyme découverte chez *Escherichia coli* par Chamberlain et Berg en 1962 et rapidement étudiée par Haselkorn en 1964 : c'est l'*ARN polymérase ;*



▲ ***Principe de formation des ARN (noter que le substrat utilisable est un triphosphate, riche en énergie).***



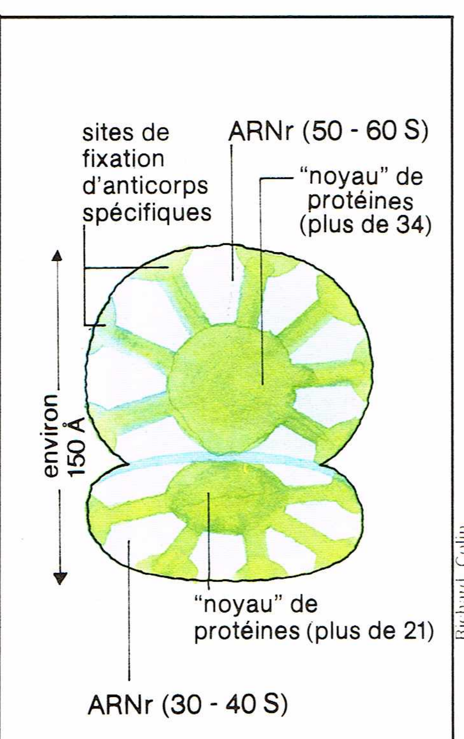
◀ ***Schéma du mode de synthèse des ARN (d'après Watson).***

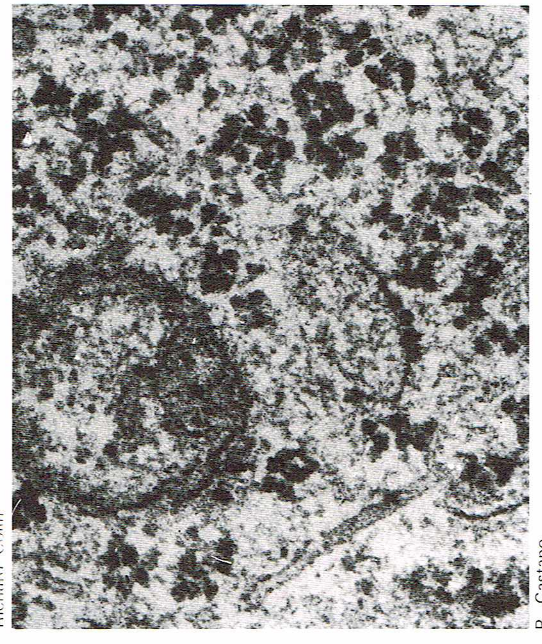


▲ *Principe de la* **formation** *et de la* **migration** *des trois types d'***ARN.**

▶ *Page ci-contre, représentation schématique développée du mécanisme de traduction du code lors de la synthèse protéique.*

▼ *A gauche, constitution hypothétique du* **ribosome** *: 2 sous-unités de taille différente.*
A droite, **ribosomes** *vus en microscopie électronique (× 100 000) dans une cellule épithéliale de rein de lapin.*





Remarquons, par ailleurs, que les gènes de l'ADN qui déterminent les ARNt ne codent pas pour la fabrication de protéines; de plus, chez les animaux supérieurs, 1 % seulement de l'ADN code pour les protéines. On voit donc que l'*hétérogénéité fonctionnelle* de l'ADN est très frappante; cela confirme les constatations faites par les cytologistes et les biochimistes.

Le mécanisme paraît pouvoir fonctionner avec l'ADN et les ARN messager et de transfert; mais il n'en est rien : la présence des ARN ribosomiques est nécessaire. Comme les ARNt, ceux-ci sont formés sur de courtes portions du chromosome. *C'est au contact des ARNr que le codage pour les protéines peut s'effectuer grâce aux ARNm et ARNt.*

— Les ARNr, formés au niveau des chromosomes, s'accumulent dans le nucléole (chez les Eucaryotes) avant de passer ensuite dans le hyaloplasme. Ils ne jouent aucun rôle de matrice : en effet, leurs nucléotides sont rapidement méthylés, donc inactivés. On estime maintenant que les ARN ribosomiques s'associent très précocement à des protéines de structure, à l'intérieur même du noyau; passant dans le hyaloplasme, ces molécules associées constituent des ribosomes dont nous verrons ultérieurement la disposition dans le cytoplasme. Travers estime qu'un facteur ψ, formé de deux protéines, permet à une ARN polymérase spécifique de déclencher la synthèse d'ARN ribosomiques à partir de portions de la matrice d'ADN; ensuite, ces protéines resteraient combinées au ribosome.

Les ribosomes, organites extrêmement petits, sont faits de deux parties, ou *sous-unités,* que l'on peut séparer par ultracentrifugation. Le coefficient de sédimentation des ribosomes complets est de 70 S; ils contiennent 50 % d'eau; après dessiccation, on y trouve 27 % de protéines. La *première* sous-unité (50 S), la plus volumineuse, contient une très grande molécule d'ARN 23 S d'environ 3 200 nucléotides; ceux-ci sont associés à 34 protéines, toutes différentes (Garrett et Wittmann, 1973), qui ont été déterminées après élimination de l'ARN par une électrophorèse à deux dimensions sur couche mince d'un gel de polyacrylamide. On trouve aussi dans cette sous-unité une seconde molécule d'ARNr 5 S faite de 120 nucléotides associés à 34 protéines. La *seconde* sous-unité (30 S) comporte un ARNr 16 S de 1 600 nucléotides associés à 21 protéines.

Une telle complexité révèle la difficulté qu'il y a à comprendre ce qui se passe dans le ribosome. Un tel type de ribosome a été décrit chez une Bactérie, *Escherichia coli,* mais il n'est pas certain que les ribosomes des Eucaryotes soient aussi « simples »... En fait, chez les Eucaryotes, les ribosomes sont sensiblement plus volumineux (Favard, 1973), mais on y trouve aussi deux sous-unités, 60 S et 40 S, et il semble bien que ceux-ci n'aient pas un degré de complexité nettement plus grand. Enfin, comme le remarque Simonet, « les ribosomes d'Eucaryotes traduisent des messagers avec les ARNt d'*E. coli* et inversement ». Ils ne sont donc pas fonctionnellement différents.

— Quelle est la fonction des protéines du ribosome lors de la traduction ? Il est encore trop tôt pour répondre à cette question. Selon Favard, les ARNr seraient situés en position périphérique, ce qui permettrait la liaison des deux sous-unités du ribosome par des ions Mg^{++} disposés entre deux groupements phosphatés. Cette idée se trouve confirmée par des digestions ménagées à la ribonucléase (enzyme) : les ARNr sont très sensibles à cette diastase et ne sont donc pas protégés par une gangue protéique externe. Cependant, selon Garrett et Wittmann, les protéines sont au moins *partiellement* externes, même si elles doivent constituer ce que Favard appelle le noyau du ribosome; ces auteurs se fondent sur des expériences très précises : des anticorps spécifiques de chaque protéine se fixent sur la surface des ribosomes; de plus, des digestions ménagées par des protéases, également spécifiques, permettent de supprimer de telles réactions anticorps-antigènes. Rien de tout cela ne permet d'entrevoir le rôle des protéines ribosomiales, du moins *a priori.*

Cependant, Garrett et Wittmann estiment que la répartition des protéines ribosomiales implique un échange de certaines d'entre elles entre les sous-unités : cela faciliterait ce qu'ils appellent « les étapes mécaniques spécifiques de la synthèse protéique ».

— Voici comment on peut schématiser les étapes d'une telle adaptation. La *sélection* de chacun des acides aminés, puis son *accrochage* sur l'adaptateur, se font grâce à une enzyme spécifique, l'*amino-acyl-ARNt synthétase*. Celle-ci reconnaît à la fois l'acide aminé et l'adaptateur. Nous savons que les protéines enzymatiques comportent ainsi plusieurs sites qui leur permettent d'effectuer la coaptation de deux molécules qui, *a priori*, n'ont aucune affinité. L'adaptateur est un ARN, l'*ARN de transfert*. Son rôle est de transférer l'acide aminé contre la matrice d'ARNm. On pourrait s'étonner du fait que l'adaptateur soit un ARN ; il faut toutefois se souvenir que l'ARNm est *monocaténaire* (constitué d'un seul brin), ce qui lui permet de se lier préférentiellement à un autre ARN par des ponts hydrogène ; le système est donc tout à fait remarquable. Il n'y a pas nécessairement un accolement complet des deux ARN, mais la complémentarité de deux courtes portions suffit à lier un ARNt à l'ARNm issu du noyau.

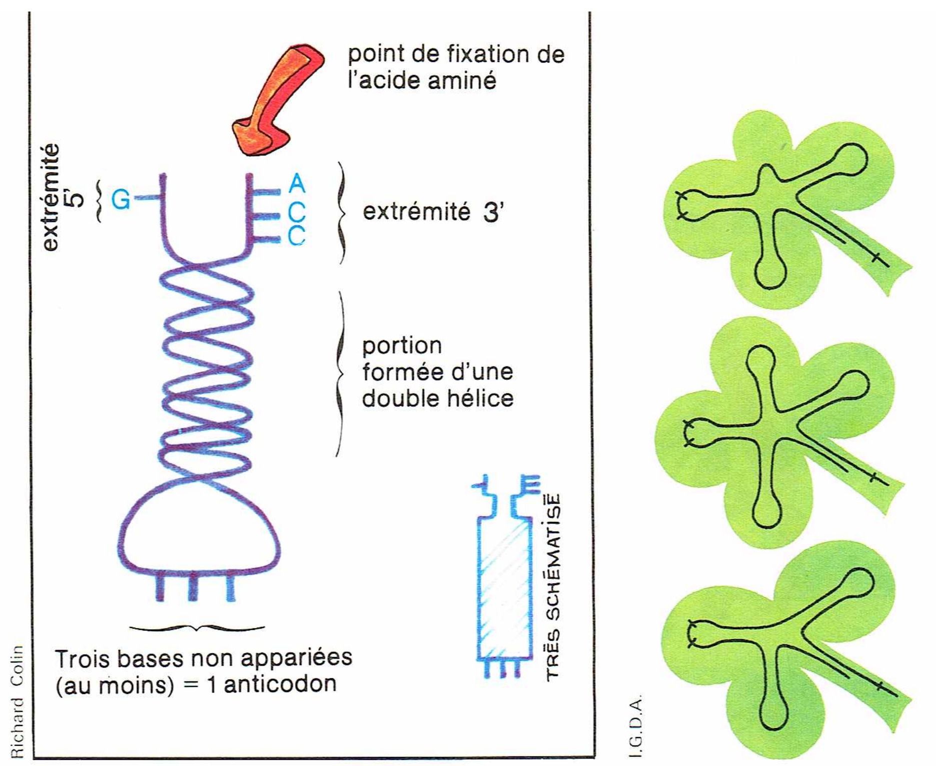
Les ARN de transfert sont appelés ARN solubles (ARNs), bien que tous les ARN le soient. En fait, ils sont les seuls qui ne constituent pas de figures, voire d'organites, visibles dans les cellules grâce au microscope électronique. L'ARNt, léger, à coefficient 4 S, comporte environ 80 nucléotides ; son poids moléculaire est de 25 000. La chaîne est repliée en épingle à cheveux, formant une structure en double hélice, mais qui reste imparfaite. En 1964, on a constaté que les séquences contenaient des *bases rares* qui empêcheraient certaines portions de la molécule de se spiraler, faute de réelle complémentarité. Watson considère que ce sont les portions non spiralées qui peuvent se lier à l'enzyme de coaptation, ou à une portion de l'ARNm. Lors du transfert de l'acide aminé « choisi » par l'enzyme, l'ARNt porte cet acide aminé fixé en position terminale 3′ sur l'adénine. Puisqu'il existe 20 acides aminés fondamentaux, il y a au moins 20 ARNt différents, dont la conformation permet l'adaptation sur un point particulier de l'ARNm.

— Il faut citer le travail essentiel de Gamow, publié en 1954. Dès cette époque, il estima que le *code génétique* était formé d'unités de *3 nucléotides*, unités que l'on doit concevoir aussi bien pour les ADN que pour les ARNm ou les ARNt décrits dix ans plus tard ; en effet, sachant que l'ADN contient les quatre nucléotides A, T, G et C, on peut avoir 64 combinaisons différentes si on les prend 3 par 3 ; par contre, il y en a moins de 20 si on les prend 2 par 2, ce qui exclut la possibilité que 2 nucléotides liés puissent coder pour l'un des 20 acides aminés. L'idée était séduisante ; par la suite, elle fut confirmée maintes fois. Trois nucléotides de l'ARNm constituent un *codon* suffisant pour expliquer l'incorporation d'*un certain* acide aminé dans une chaîne polypeptidique. Donc, pour chacun des ARNt spécifiques d'un acide aminé, il existe un *anticodon* de 3 nucléotides, complémentaire du codon de l'ARNm. Le code des acides nucléiques, porté par l'ARNm, *se traduit*, en présence des ARNt, par la synthèse d'un polypeptide préalablement défini.

Théoriquement, il doit y avoir au moins 20 enzymes de coaptation dans chaque cellule et au moins 20 ARNt différents. Cependant, il y a une *dégénérescence du code* qui fait que plusieurs types d'ARNt peuvent être spécifiques d'un même acide aminé ; en fait, le code génétique est déterminé, dans bien des cas, par plus d'un codon ou triplet de nucléotides (Watson).

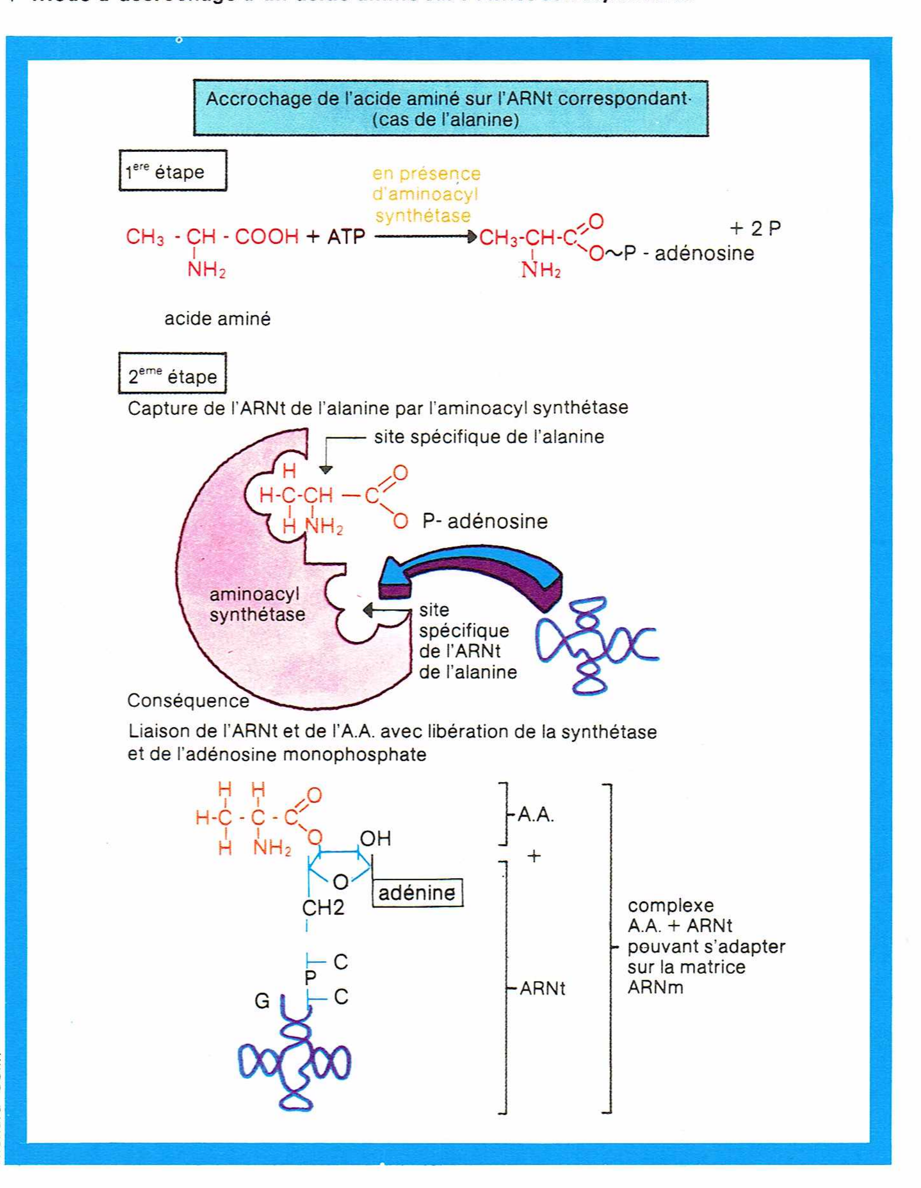
— Les chercheurs se sont posé deux questions primordiales au sujet des ARNt : de quelle façon se forment-ils et, d'autre part, à quel niveau se fait le codage que l'on vient d'évoquer ?

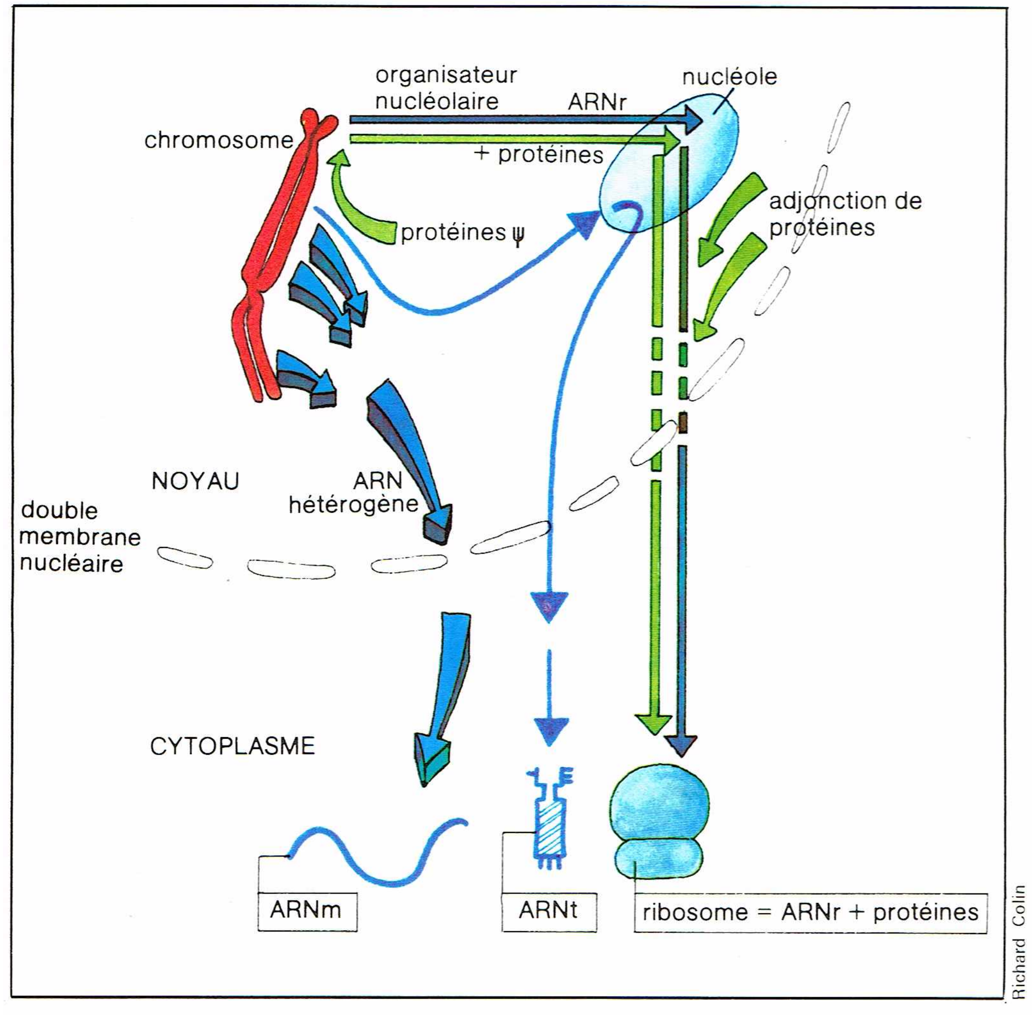
On pouvait se demander si l'ARNt n'était pas capable d'autosynthèse, ou d'autoréplication, comme l'ADN ou l'ARN monocaténaire des virus, lequel peut se reproduire en présence d'*ARN synthétase*, au moment de l'infection de la cellule hôte. Watson considère comme une réponse essentielle le fait que des ARNt puissent s'hybrider avec des molécules d'ADN isolées et déspiralisées : ces hybridations montrent que des portions de ces deux types de molécules sont complémentaires, et l'on est en droit de penser que les ARNt se forment au contact de matrices d'ADN. Les points des molécules d'ADN où se fait cette synthèse d'ARNt représenteraient nettement moins de 1 % de la longueur d'une fibre, ce qui est une proportion étonnamment réduite si l'on pense à la concentration élevée des ARNt par rapport aux ARNm dans la cellule.



▲ *A gauche, constitution schématique d'un* **ARN de transfert** *;*
la conformation des différents **ARNt** *(vingt au moins) permet l'adaptation sur un point particulier de l'ARNm.*
A droite, représentation de la forme « en trèfle » de trois molécules d'ARNt (ou ARNs) *: de haut en bas, ARNt-tyrosine ; ARNt-sérine ; ARNt-alanine.*

▼ *Mode d'accrochage d'un* **acide aminé** *sur l'***ARNt** *correspondant.*

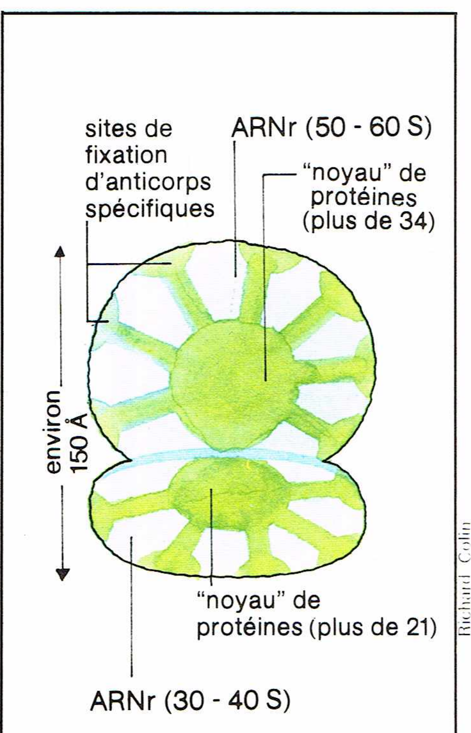


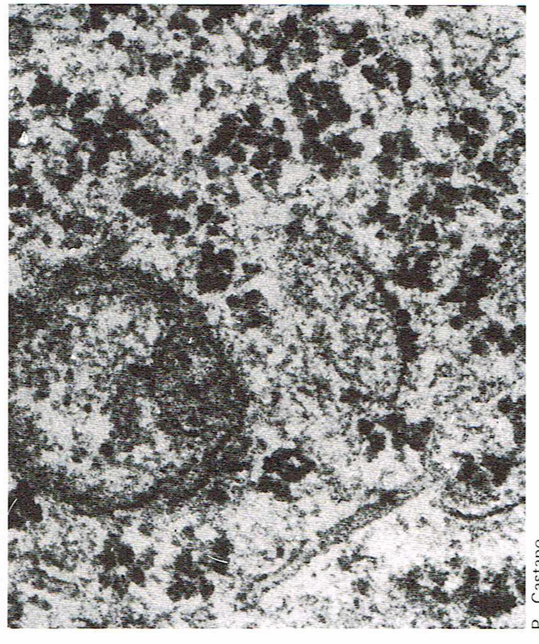


▲ *Principe de la* formation *et de la* migration *des trois types d'*ARN.

▶ *Page ci-contre, représentation schématique développée du mécanisme de traduction du code lors de la synthèse protéique.*

▼ *A gauche, constitution hypothétique du* ribosome : *2 sous-unités de taille différente.*
A droite, ribosomes *vus en microscopie électronique (× 100 000) dans une cellule épithéliale de rein de lapin.*





Remarquons, par ailleurs, que les gènes de l'ADN qui déterminent les ARNt ne codent pas pour la fabrication de protéines; de plus, chez les animaux supérieurs, 1 % seulement de l'ADN code pour les protéines. On voit donc que l'*hétérogénéité fonctionnelle* de l'ADN est très frappante; cela confirme les constatations faites par les cytologistes et les biochimistes.

Le mécanisme paraît pouvoir fonctionner avec l'ADN et les ARN messager et de transfert; mais il n'en est rien : la présence des ARN ribosomiques est nécessaire. Comme les ARNt, ceux-ci sont formés sur de courtes portions du chromosome. *C'est au contact des ARNr que le codage pour les protéines peut s'effectuer grâce aux ARNm et ARNt.*

— Les ARNr, formés au niveau des chromosomes, s'accumulent dans le nucléole (chez les Eucaryotes) avant de passer ensuite dans le hyaloplasme. Ils ne jouent aucun rôle de matrice : en effet, leurs nucléotides sont rapidement méthylés, donc inactivés. On estime maintenant que les ARN ribosomiques s'associent très précocement à des protéines de structure, à l'intérieur même du noyau; passant dans le hyaloplasme, ces molécules associées constituent des ribosomes dont nous verrons ultérieurement la disposition dans le cytoplasme. Travers estime qu'un facteur ψ, formé de deux protéines, permet à une ARN polymérase spécifique de déclencher la synthèse d'ARN ribosomiques à partir de portions de la matrice d'ADN; ensuite, ces protéines resteraient combinées au ribosome.

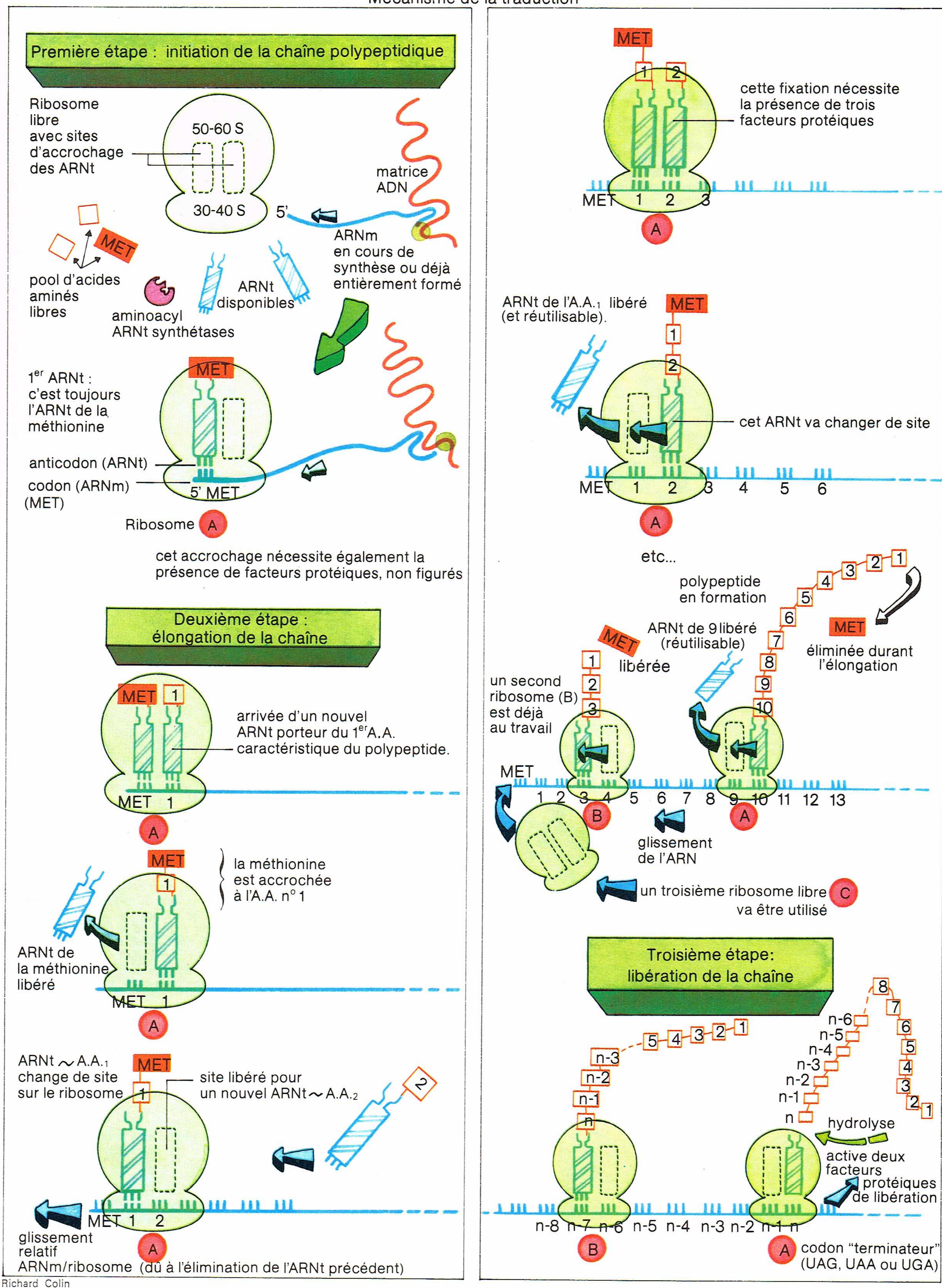
Les ribosomes, organites extrêmement petits, sont faits de deux parties, ou *sous-unités,* que l'on peut séparer par ultracentrifugation. Le coefficient de sédimentation des ribosomes complets est de 70 S; ils contiennent 50 % d'eau; après dessiccation, on y trouve 27 % de protéines. La *première* sous-unité (50 S), la plus volumineuse, contient une très grande molécule d'ARN 23 S d'environ 3 200 nucléotides; ceux-ci sont associés à 34 protéines, toutes différentes (Garrett et Wittmann, 1973), qui ont été déterminées après élimination de l'ARN par une électrophorèse à deux dimensions sur couche mince d'un gel de polyacrylamide. On trouve aussi dans cette sous-unité une seconde molécule d'ARNr 5 S faite de 120 nucléotides associés à 34 protéines. La *seconde* sous-unité (30 S) comporte un ARNr 16 S de 1 600 nucléotides associés à 21 protéines.

Une telle complexité révèle la difficulté qu'il y a à comprendre ce qui se passe dans le ribosome. Un tel type de ribosome a été décrit chez une Bactérie, *Escherichia coli,* mais il n'est pas certain que les ribosomes des Eucaryotes soient aussi « simples »... En fait, chez les Eucaryotes, les ribosomes sont sensiblement plus volumineux (Favard, 1973), mais on y trouve aussi deux sous-unités, 60 S et 40 S, et il semble bien que ceux-ci n'aient pas un degré de complexité nettement plus grand. Enfin, comme le remarque Simonet, « les ribosomes d'Eucaryotes traduisent des messagers avec les ARNt d'*E. coli* et inversement ». Ils ne sont donc pas fonctionnellement différents.

— Quelle est la fonction des protéines du ribosome lors de la traduction ? Il est encore trop tôt pour répondre à cette question. Selon Favard, les ARNr seraient situés en position périphérique, ce qui permettrait la liaison des deux sous-unités du ribosome par des ions Mg^{++} disposés entre deux groupements phosphatés. Cette idée se trouve confirmée par des digestions ménagées à la ribonucléase (enzyme) : les ARNr sont très sensibles à cette diastase et ne sont donc pas protégés par une gangue protéique externe. Cependant, selon Garrett et Wittmann, les protéines sont au moins *partiellement* externes, même si elles doivent constituer ce que Favard appelle le noyau du ribosome; ces auteurs se fondent sur des expériences très précises : des anticorps spécifiques de chaque protéine se fixent sur la surface des ribosomes; de plus, des digestions ménagées par des protéases, également spécifiques, permettent de supprimer de telles réactions anticorps-antigènes. Rien de tout cela ne permet d'entrevoir le rôle des protéines ribosomiales, du moins *a priori.*

Cependant, Garrett et Wittmann estiment que la répartition des protéines ribosomiales implique un échange de certaines d'entre elles entre les sous-unités : cela faciliterait ce qu'ils appellent « les étapes mécaniques spécifiques de la synthèse protéique ».

Mécanisme de la traduction



▶ *Page ci-contre, principes du contrôle des synthèses protéiques (micro-organismes).*

— On cherche actuellement à savoir sur quelles séquences des molécules d'ARNr se trouve installée chacune des protéines. Un certain nombre de chercheurs essaient d'établir une *carte des liaisons,* espérant ainsi comprendre le mode de fonctionnement précis de l'organite. Au Japon, Nomura est parvenu à combiner *in vitro* des sous-unités de l'ARNr 16 S avec des protéines isolées, l'ensemble constituant des sous-unités biologiquement actives. On peut concevoir des reconstitutions de types divers, en particulier celles où l'on recombine tous les constituants moins un, ce qui peut ensuite entraîner un trouble précis de la biosynthèse effectuée *in vitro*. C'est un travail d'une ampleur considérable, fondamental pour la compréhension des mécanismes vitaux.

L'importance des protéines ribosomiales apparaît essentielle. En 1972, Kurland a montré que certaines protéines associées à l'ARNr 16 S sont indispensables pour que l'ARNt chargé de son acide aminé se fixe sur le ribosome. De plus, des mutations affectant des protéines ribosomiales changent la fidélité de la lecture, ce qui implique des ambiguïtés, puis des erreurs de codage (Gorini et coll. ; Picard).

— Que se passe-t-il durant le codage au niveau ribosomial ? Watson qualifie le ribosome d' « usine de la synthèse protéique », et Favard de « machine lectrice d'ARN messagers, qui assemble des acides aminés en chaînes protéiques ». Ces images évoquent la tête de lecture d'un magnétophone, dont la bande magnétique correspondrait à l'ARNm. Mais il est peut-être préférable d'assimiler le ribosome à une lentille de projection cinématographique : l'ARNm, qui serait la pellicule, *défilerait par saccades* derrière le ribosome-objectif, qui projetterait, non pas un enchaînement d'images, mais une chaîne polypeptidique, *traduction* fidèle du message...

Le mécanisme a été découpé en *trois étapes*. Pour que se fasse l'*initiation* d'une chaîne polypeptidique, il faut un contact entre un codon de l'ARNm et la sous-unité 30 S d'un ribosome ; cela implique l'existence d'un ARNt particulier (ARNt formyl-méthionyl) et de facteurs protéiques agissant en présence de molécules riches en énergie (GTP).

Le contact ne s'effectue pas à n'importe quel endroit de la chaîne d'ARNm. La lecture commence par l'extrémité 5' de cette chaîne ; comme cette extrémité correspond aux premiers nucléotides d'ARNm synthétisés au niveau de l'ADN, il peut y avoir contact entre des ribosomes et des molécules d'ARNm encore incomplètes. Ensuite, durant la phase d'*élongation* de la chaîne polypeptidique, la lecture se poursuit le long de l'ARNm dans le sens 5' → 3'. Toute une série de codons défilent alors au contact du ribosome ; chacun de ces codons « choisit » parmi les ARNt qui sont au voisinage du ribosome celui dont les bases non appariées lui sont complémentaires ; cet ARNt se fixe donc sur le codon complémentaire de l'ARNm et entraîne son acide aminé spécifique ; celui-ci est alors accroché au bout de la chaîne polypeptidique en formation, puis l'ARNt se détache tandis qu'un nouveau codon se présente au contact du ribosome, etc. Chaque fois qu'un ARNt perd sa liaison avec la chaîne polypeptidique en formation, il est libéré dans le hyaloplasme et peut donc servir ultérieurement pour transporter une autre molécule de son acide aminé spécifique, ce qui lui permet de participer de nouveau à la synthèse polypeptidique. Cette libération d'un ARNt est le signal d'un glissement de l'ARNm sur le ribosome : un nouveau codon se présente alors, ainsi que nous l'avons vu. Trois facteurs protéiques sont nécessaires pour que l'élongation puisse se faire ; ils permettent d'une part la fixation de l'ARNt, chargé de son acide aminé, sur le ribosome, et d'autre part le déplacement relatif de la chaîne d'ARNm au contact du ribosome ; la synthèse polypeptidique se fait donc de manière saccadée... La fin de croissance du polypeptide correspond à la phase de *libération,* durant laquelle il y a hydrolyse du complexe ARNt-polypeptide ; cela dépend de deux facteurs protéiniques, ou facteurs de libération, dont on ne connaît pas précisément le mode d'action ; ils seraient activés par certains codons jouant le rôle de signaux de fin de synthèse (ponctuation sur l'ARNm : UAG, UAA' et UGA = codons terminateurs ; de plus, aucun ARNt ne correspond à ces codons particuliers). Tout le processus est extrêmement rapide : l'élaboration d'une molécule polypeptidique de poids moléculaire 40 000 prend environ 10 secondes.

Une molécule d'ARNm est en contact avec plusieurs ribosomes échelonnés sur des segments d'environ 80 nucléotides ; l'ensemble de ces ribosomes forme un *polysome*. Autrement dit, la traduction, au niveau des ribosomes, des informations apportées par l'ARNm se fait à une cadence extraordinaire, plusieurs chaînes polypeptidiques se formant presque *simultanément*. Cette utilisation intensive des molécules d'ARNm permet une synthèse protéique fort importante ; il ne faut donc pas s'étonner que les ARNm soient, pondéralement, aussi peu abondants dans tous les types cellulaires : malgré leur faible concentration (1 à 2 % de l'ARN total), ils sont extrêmement efficaces.

Si, à l'heure actuelle, on possède un schéma du mécanisme de la synthèse protéique, il est évident que bien des points sont encore obscurs. Par exemple, on peut se demander à quoi servent les portions redondantes de l'ADN et, par ailleurs, la complexité du ribosome peut laisser perplexe.

— Notons, enfin, que l'on peut déterminer la constitution d'un ARN messager de telle ou telle protéine à partir de la séquence des acides aminés de celle-ci, puisque, en principe, chaque acide aminé de la protéine implique l'existence d'un codon particulier de l'ARNm. Il faut, bien sûr, effectuer des corrections, compte tenu de la dégénérescence du code. Il est, théoriquement, moins difficile de déterminer ainsi la structure primaire d'un ARNm que par l'analyse directe...

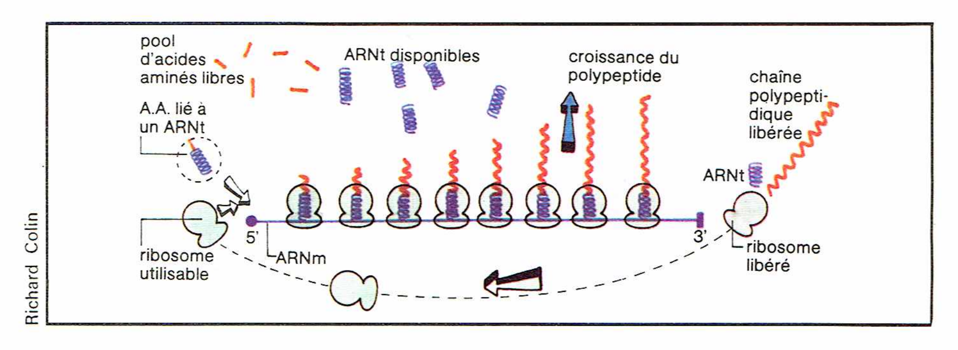
Principes du contrôle des synthèses protéiques

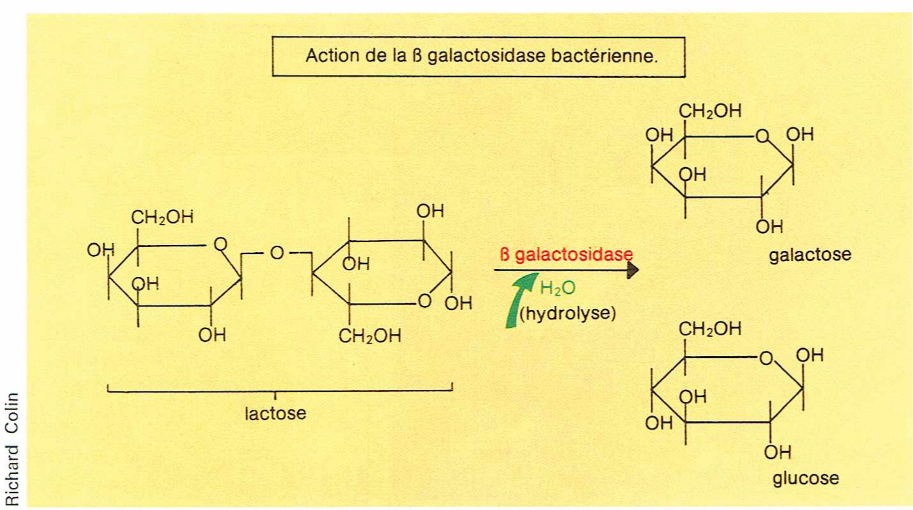
La synthèse des différents types de protéines se fait à des vitesses très différentes

Cette synthèse peut être régulière ou très nettement discontinue, et varie suivant les conditions du milieu. L'expérimentation a essentiellement porté sur les Bactéries, matériel pratique et réagissant très rapidement aux variations des conditions chimiques.

La concentration d'une protéine bactérienne peut varier considérablement suivant les conditions de nourriture d'une colonie. Par exemple, le taux de β *galactosidase* augmente dans des proportions de 1 à 1 million si la Bactérie *Escherichia coli* est cultivée sur un milieu dépourvu de lactose ou, au contraire, sur un milieu dont la source de carbone est essentiellement constituée par ce

▼ *En haut, schéma du principe de fabrication des chaînes polypeptidiques (d'après Watson). En bas, action de la* **β galactosidase** *; cette enzyme n'est synthétisée que si sa présence est nécessaire.*





diholoside : l'enzyme qui peut hydrolyser le lactose, la β galactosidase, n'est synthétisée à partir des matrices ADN-ARNm que si sa présence est nécessaire ; autrement dit, s'il n'entre pas de lactose dans la Bactérie, le gène codant pour la β galactosidase est inactif. Le lactose est un *facteur inducteur* pour cette enzyme, qui est *inductible*. (Toutes les enzymes ne sont pas inductibles.)

Par ailleurs, le taux des enzymes qui permettent la synthèse des acides aminés est voisin de zéro si le milieu contient déjà des acides aminés. Dans les deux cas, il y a adaptation de la cellule à son milieu. On estime que l'abondance d'une protéine dans la cellule dépend souvent de la quantité d'ARNm qui code pour cette protéine.

Substances jouant le rôle de répresseurs vis-à-vis de l'ADN qui permet l'élaboration des molécules d'ARNm

Il y aurait des répresseurs spécifiques de chaque type protéique, c'est-à-dire de chaque gène codant pour une protéine. Ces *répresseurs endogènes* sont eux-mêmes codés par des *gènes régulateurs,* portés par l'ADN. Toutefois, tels quels, ils ne sont pas capables de bloquer la synthèse d'ARNm : il faut pour cela qu'ils soient *activés ;* cette activation se produit grâce à des *co-répresseurs* spécifiques de chacun des répresseurs. En fait, chaque répresseur existe dans la cellule, soit sous forme activée après la liaison avec un co-répresseur, soit sous forme inactivée après liaison avec une molécule d'*inducteur*. Ainsi, nous avons vu précédemment que la synthèse de la β galactosidase nécessite la présence d'un inducteur, le lactose ; cet inducteur agit en se combinant au répresseur et en l'inactivant ; le répresseur ne peut donc plus empêcher la synthèse de l'ARNm responsable de la synthèse de cette enzyme. Watson note que ce n'est pas le lactose lui-même qui est l'inducteur, mais un dérivé très voisin, qui se forme quand le lactose entre dans la cellule.

Précisons que certains répresseurs contrôlent la synthèse de plusieurs protéines. Toujours dans le cas de la β *galactosidase,* le répresseur de cette enzyme contrôle aussi une *perméase* responsable de l'entrée du lactose dans la cellule. Or, ces deux enzymes sont liées, en ce sens qu'elles interviennent conjointement dans le métabolisme. Sur l'ADN qui code pour ces enzymes, les deux gènes sont adjacents ; ils forment ce que l'on appelle un *opéron* (Jacob et Monod, 1961) ; l'opéron permet la synthèse d'une molécule d'ARNm codant pour les deux enzymes. *Autrement dit, l'ensemble des nucléotides adjacents qui codent pour une molécule unique d'ARNm, et dont la synthèse est contrôlée par un répresseur unique, constitue un opéron*. Sur un opéron, il peut exister 1, 2 ou même un assez grand nombre de gènes (10 dans le cas de la biosynthèse de l'histidine). Le modèle est plus ou moins différent pour les Eucaryotes.

On peut se demander comment fonctionnent les répresseurs activés. Des travaux de génétique ont montré qu'ils n'agissent pas directement sur l'opéron mais sur une portion adjacente de l'ADN, qui a été appelée *opérateur :* si une mutation produit une modification de l'opérateur, le répresseur activé normal devient inefficace, et la synthèse d'ARNm se poursuit régulièrement, comme si le répresseur n'existait pas. L'*AMP cyclique* est indispensable pour que le gène opérateur soit efficace ; cette molécule agit en association avec un facteur protéique, le CAP (*catabolite gene activator protein*), mis en évidence par Beckwith et Pulman. On sait peu de chose sur le contrôle de la synthèse des répresseurs eux-mêmes.

Une remarque importante : la synthèse de certaines protéines n'est pas contrôlée par un système répresseur aussi direct

Par exemple, les enzymes qui entraînent la dégradation du glucose sont synthétisées « sans contrôle » ; en conséquence, leur taux n'est pas modifié par un apport ou par une réduction du glucose dans le milieu extracellulaire. Dans ce cas, et dans les cas semblables, la synthèse protéique s'effectue à une vitesse que l'on peut qualifier de vitesse maximale. Celle-ci dépend de divers facteurs, et elle est différente suivant le type de protéine synthétisée. La connaissance de ces facteurs est encore très imprécise ; il s'agit là d'un problème fondamental. On pense que le contrôle dépend des diverses enzymes qui conditionnent la synthèse des ARN ribosomiques.

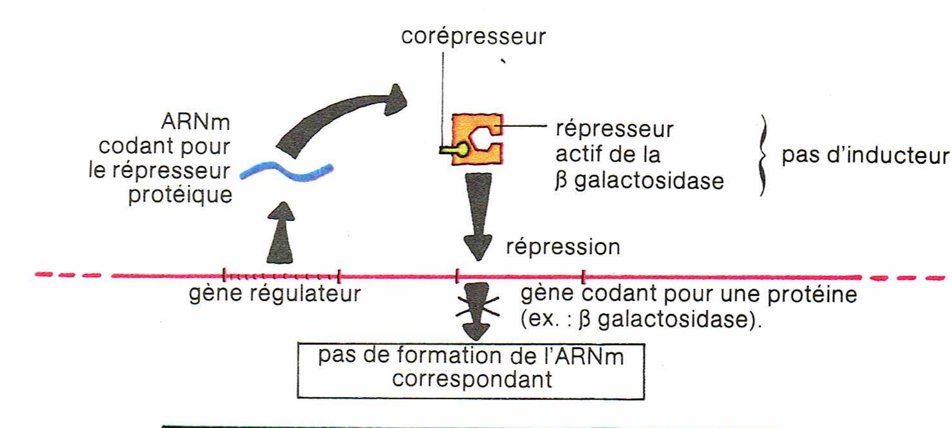
Richard Colin

Conditions de synthèse de la β galactosidase (enzyme inductible qui hydrolyse le lactose) (Micro-organismes)

En présence de lactose :

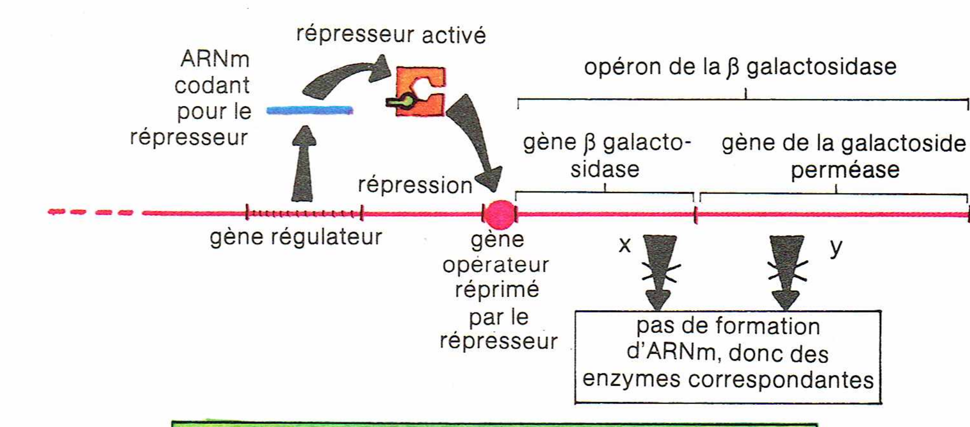
lactose
inducteur dérivé du lactose
corépresseur
ARNm codant pour le répresseur protéique
répresseur inactivé par la liaison avec l'inducteur
pas de répression
ADN
gène régulateur
codage possible
ARNm
β galactosidase

En l'absence de lactose :



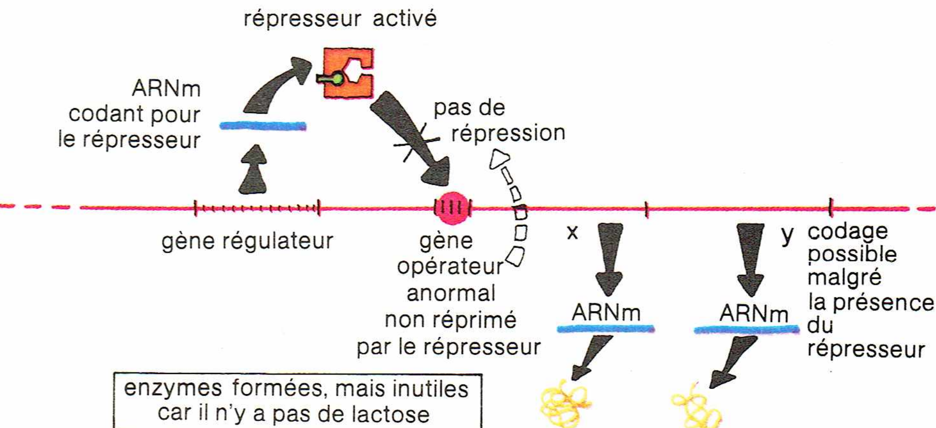
Régulation de la synthèse d'enzymes inductibles : β galactosidase galactoside perméase (Micro-organismes)

En l'absence de lactose :



Cas d'un mutant dont le gène opérateur est modifié

En l'absence de lactose :



Modification expérimentale des synthèses d'acides nucléiques et de protéines

Des mutations provoquées permettent de modifier notablement les taux des synthèses nucléiques et protéiques; il en sera question ultérieurement. Certaines substances chimiques peuvent freiner ou bloquer les synthèses à un niveau précis. D'autres peuvent avoir des effets très importants, mais moins définis.

Effets des antibiotiques

On peut empêcher la transcription, c'est-à-dire la synthèse des ARN, en introduisant dans l'organisme de l'*actinomycine*. Cette substance se combine aisément aux fibres d'ADN. Par exemple, elle empêche la poursuite du développement embryonnaire de l'œuf d'Amphibien si elle est administrée assez tardivement, c'est-à-dire juste avant la mise en place des organes; par contre, elle est inactive durant la période initiale du développement : en effet, durant la segmentation de l'œuf, les premières cellules utilisent des ARNm préexistants, fabriqués par l'ovocyte avant la fécondation; la fixation de l'actinomycine sur l'ADN est alors inefficace tant qu'il n'est pas nécessaire de synthétiser de nouveaux ARN (Brachet et coll., 1964).

La traduction peut être bloquée par la *puromycine*, qui agit au niveau des ribosomes et empêche donc la synthèse des protéines. En reprenant l'exemple de l'œuf, on constate que l'action de cette substance antibiotique se manifeste dès le début de la segmentation, au stade 2 ou 4 cellules (Brachet, 1964; Legros et Brachet, 1965). L'œuf ne contient donc pas un stock suffisant de protéines pour poursuivre son développement. On obtient les mêmes résultats avec la *cycloheximide*. Chez *Escherichia coli*, la synthèse protéique peut être inhibée par la *spectinomycine*, un antibiotique aminoglucosidique se fixant sur la sous-unité 30 S du ribosome. L'effet de la *streptomycine*, bien qu'un peu plus complexe, est sensiblement le même. Dans les deux cas, les antibiotiques ne modifient qu'un acide aminé de l'une des nombreuses protéines contenues dans le ribosome (Funatsu, 1972; Kurland, 1972). Garrett et Wittmann citent également le cas de la *kasugamycine*, qui provoque une modification apparemment très minime de l'extrémité des chaînes d'ARNr (Helser et coll., 1971).

La *tétracycline* agit en empêchant la fixation des ARNt sur le ribosome. La *lincomycine*, la *sparsomycine* et le *chloramphénicol* empêchent la formation des liaisons peptidiques. D'autres antibiotiques bloquent l'élongation des chaînes polypeptidiques en agissant sur les facteurs protéiques du ribosome.

La connaissance du ribosome est donc d'une grande importance non seulement du point de vue fondamental, mais aussi, comme on peut s'en rendre compte, du point de vue de la biologie médicale.

Effets des histones

On sait que les histones sont étroitement associées aux molécules d'acides nucléiques. Chez un embryon, un apport exogène d'*histones* provoque des effets qui rappellent beaucoup ceux de l'actinomycine (Brachet, 1964). Dans ce cas, les résultats sont très frappants; car les premières cellules de l'embryon n'ont pas, à proprement parler, de périodes de repos durant leur cycle de reproduction : les synthèses sont importantes et seulement interrompues durant la mitose (ce dernier point serait d'ailleurs discutable). Les histones inactivent l'ADN sur lequel elles agissent globalement, sans manifester d'affinité pour telle ou telle séquence. Cependant, selon Denis (1974), les histones endogènes subissent des modifications après leur synthèse : après acétylation et méthylation de certains de leurs constituants, ces protéines basiques pourraient « choisir » telle ou telle séquence de l'ADN; l'action des histones est donc vraisemblablement compliquée par celle de leurs dérivés.

Remarquons que les antibiotiques et les histones sont capables d'arrêter les synthèses protéiques en agissant à des niveaux bien précis du mécanisme, mais avec des effets extrêmement différents suivant le type de cellule traité. Ainsi, l'embryon est particulièrement sensible aux histones, de même que les Bactéries à l'action de certains antibiotiques tels que le chloramphénicol, alors que des cellules de Vertébrés ne subissent aucun dommage (Ehrenstein et Lipmann, 1961; Pouyet, 1968). Il s'agit là d'un point essentiel : on peut ainsi, lors d'une infection, bloquer les synthèses protéiques de Bactéries, donc provoquer leur mort, sans perturber les cellules du malade.

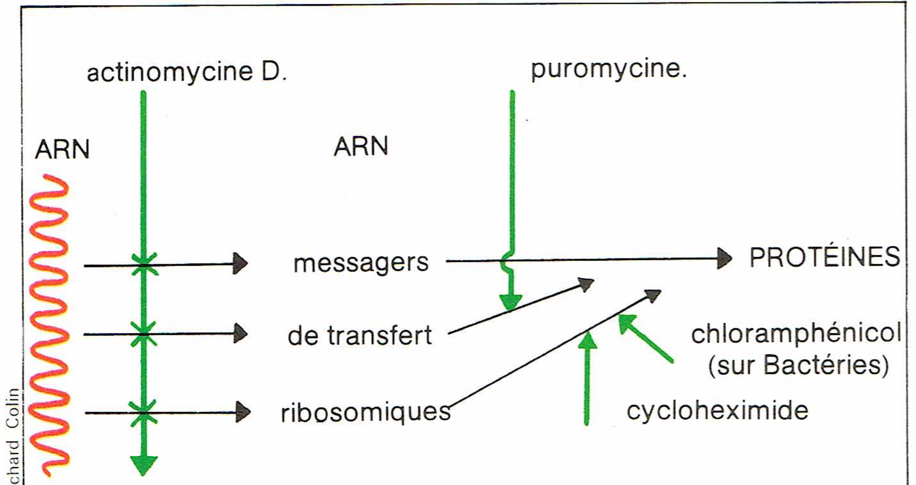
Effets des alkylants et de divers composés nitrés artificiels

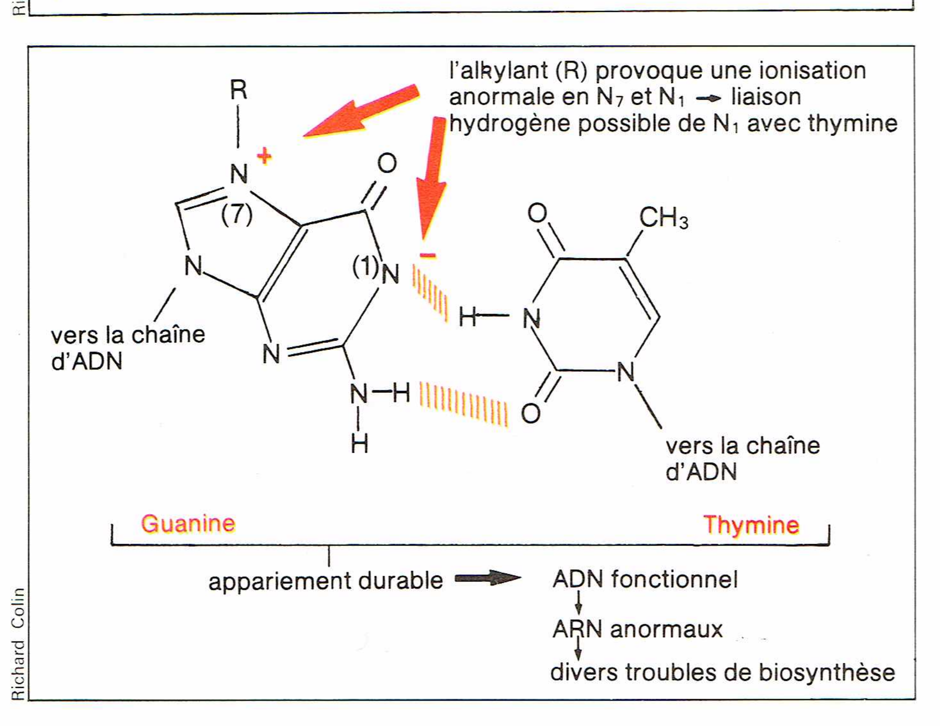
Certaines molécules modifient la structure de la chromatine sans empêcher la croissance de la cellule : ces agents peuvent provoquer des *mutations*. Ce sont les « moutardes » au soufre (les gaz de combat du type ypérite) et à l'azote, les époxydes, les éthylène-imines, les méthane-sulfonates, et les lactones. Outre leur toxicité, évidemment très frappante pour les fortes doses, ces substances sont mutagènes et cancérigènes; chez la souris et surtout chez le rat, on provoque, en les injectant, des sarcomes, ou tumeurs conjonctives (Haddow, 1958; Mac Donald, 1961). L'ADN est altéré par les alkylants (Brookes et Lawley, 1961). Il y aurait entrecroisement et soudure des brins d'ADN, ce qui entraînerait des aberrations lors de la mitose, l'erreur introduite étant durable et reproductible.

Certains composés nitrés provoquent des aberrations de la synthèse de l'ADN; ils sont alors mutagènes et peuvent être considérés comme cancérigènes.

On cite souvent le cas, très frappant du point de vue de la mutagenèse et même de la tumorigenèse, du *méthyl-nitroso-uréthane*, de la *diméthylnitrosamine* et de la *nitrosoguanidine*. Ce dernier composé est, à l'heure actuelle, très couramment utilisé pour provoquer des mutations

▼ En haut, représentation schématique du niveau d'action de quelques antibiotiques : l'actinomycine D empêche la transcription en se fixant sur l'ADN (guanine essentiellement) : la puromycine est un « analogue » des ARNt, qui peut entraîner des aberrations et l'arrêt de la synthèse des protéines. En bas, action des alkylants sur les acides nucléiques (selon Brookes et Lawley) : liaison aberrante entre la guanine et la thymine (cross-linkage); R : corps contenant un ou deux groupements alkyls CH_3 *(*CH_2*) n.*





chez les Bactéries; il s'agit, bien sûr, d'une substance extrêmement délicate à manier, étant donné le danger qu'elle représente. Magee et Schoental précisaient dès 1964 que l'absorption de ces molécules par voie buccale provoque de graves lésions du tube digestif; par voie respiratoire, elle déclenche une congestion et un œdème pulmonaire, et ensuite, des tumeurs peuvent se former chez le rat. Une seule dose de certains de ces composés nitrés peut induire des tumeurs. On n'insistera jamais assez sur les précautions qui doivent être prises quand on manipule des substances toxiques, en particulier des mutagènes. Boyland et Roe ont montré, en 1964, qu'il existe des nitrosamines dans la fumée de tabac.

Effets des antimétabolites

Les antimétabolites agissent sur divers types de molécules. Ceux qui *ralentissent* les synthèses d'acides nucléiques sont particulièrement importants : ils provoquent une altération chromosomique et une baisse du taux des divisions cellulaires (Biesele, 1961). Il peut s'agir d'analogues des bases puriques ou pyrimidiques ou d'analogues de substances immédiatement nécessaires pour la biosynthèse des nucléotides.

— Les *antifoliques* sont des analogues de l'acide folique, dont l'activité vitaminique a déjà été évoquée. Or, l'acide folique permet la biosynthèse des bases puriques et des nucléotides. Les antifoliques les plus connus, l'*aminoptérine* et l'*améthoptérine*, ont été employés dans la lutte antitumorale.

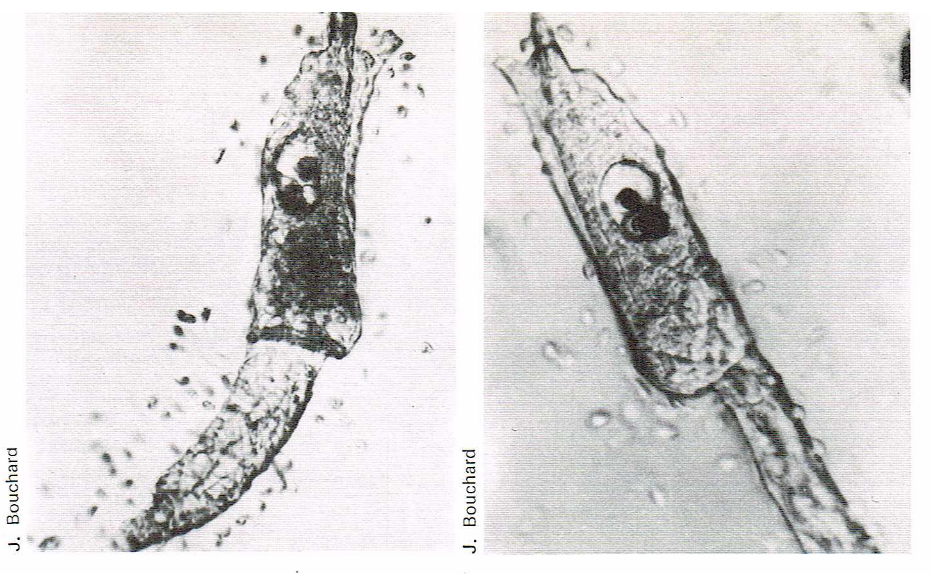
— Les *antipurines* sont des analogues des purines. Ces substances bloquent généralement l'une des étapes de la synthèse des nucléotides puriques. De nombreuses molécules ont été expérimentées, en particulier la *2,6-diaminopurine* et la *8-azaguanine*. La *6-mercaptopurine* s'est révélée moins toxique pour l'individu et cependant relativement efficace sur certaines tumeurs; elle provoque la formation d'un nucléotide anormal qui entraîne la mort de la cellule.

— Les *antiglutamines* empêchent les transferts de NH_2, qui sont nécessaires à la formation des purines et de la cytosine.

— Les *antipyrimidines* ralentissent les synthèses de pyrimidines; comme dans le cas des antipurines, il y a compétition avec le substrat normal pour un site enzymatique responsable d'une étape ultérieure de la biosynthèse. Ces analogues des pyrimidines sont également capables de s'incorporer activement dans un ARN qui ne peut donc plus synthétiser de protéines normales (par exemple, le bromo-uracile est mutagène). Des milliers d'antipyrimidines ont été essayées; peu d'entre elles sont utilisables en thérapeutique; il s'agit de composés fluorés, bromés ou iodés, qui, dans l'ensemble, sont dangereux pour l'organisme.

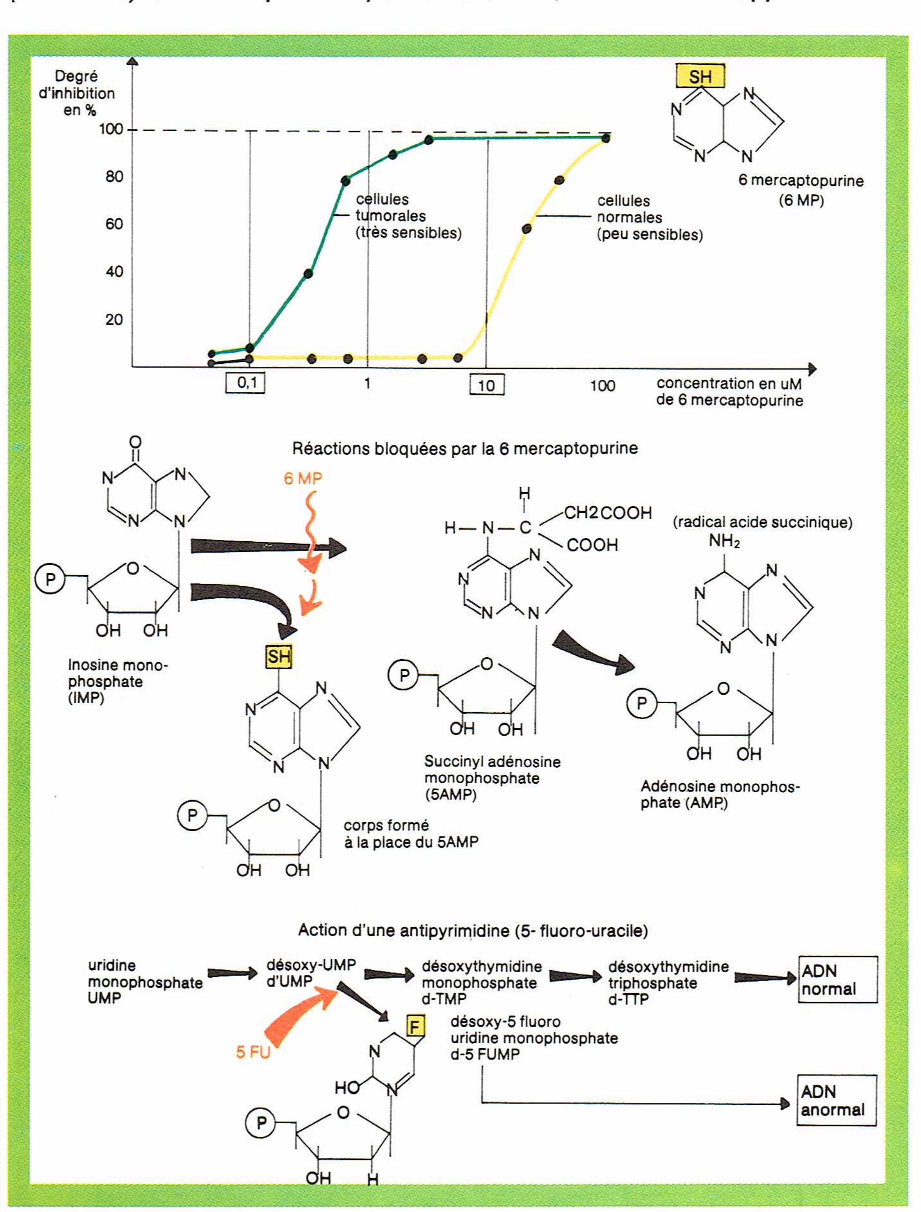
BIBLIOGRAPHIE FONDAMENTALE

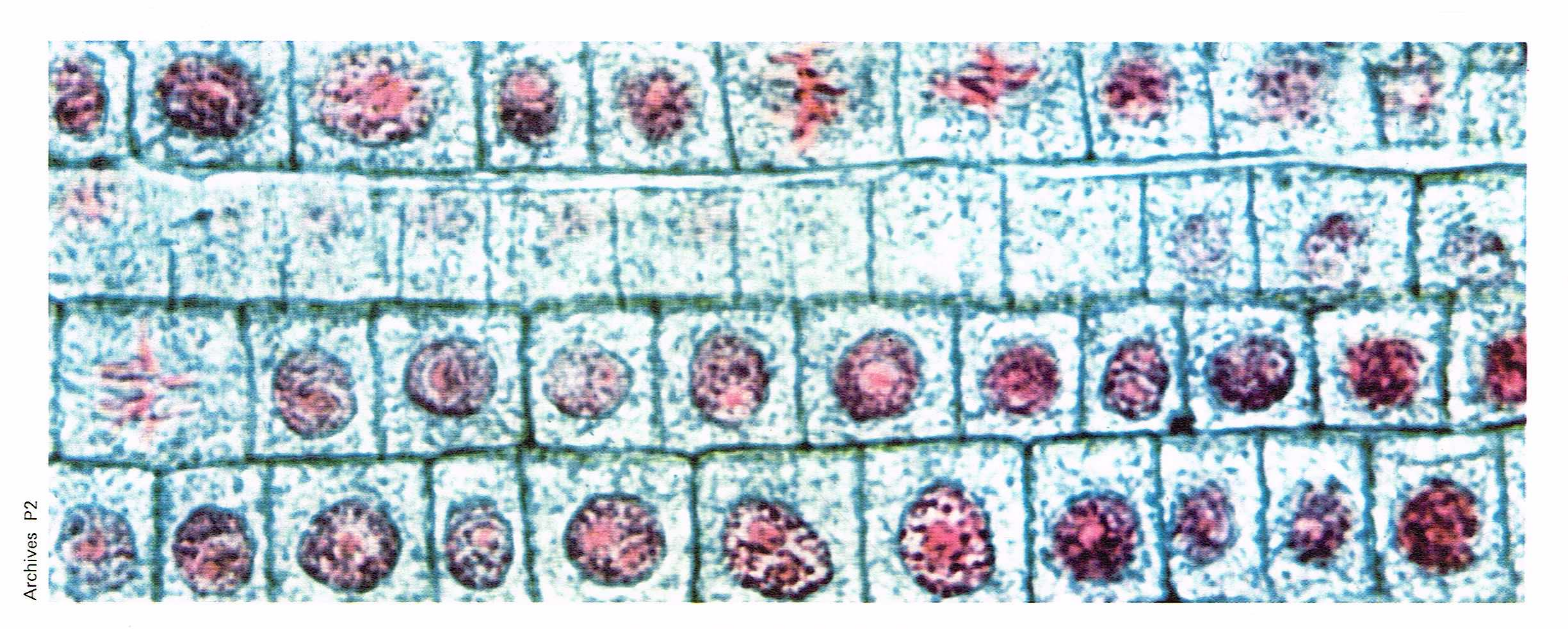
BERKALOFF A., BOURGUET J., FAVARD P. et GUINNEBAULT M., *Biologie et Physiologie cellulaire,* Hermann, éd., Paris, 322 p., 1973. - DENIS H., *Précis d'embryologie moléculaire,* Presses univ. de France, 232 p., 1974. - DURAND M. et FAVARD P., *la Cellule,* Hermann, éd., Paris, 223 p., 1972. - FLORKIN M. et SCHOFFENIELS E., *Biochimie et Biologie moléculaire,* Desoer, éd., Liège, 578 p., 1967. - GARRET R.A. et WITTMANN H.G., *Structure et Fonction du ribosome,* in *Endeavour,* vol. XXXII, n° 115, p. 8-14, 1973. - GUILLÉ E. et QUÉTIER F., *Heterochromatic, Redundant and Metabolic DNA : a New Hypothesis about Their Structure and Function,* in *Progress in Biophysics and Medecular Biology,* vol. 27, p. 121-142, 1973. - KARLSON P., *Biochimie,* Doin, éd., Paris, 403 p., 1964. - KAYSER C.H.L., *Physiologie,* Éd. Médicales, Flammarion, 1963. - KRUH J., *Biochimie,* Hermann, éd., Paris, 501 p., 1971. - KRUYT H.R. et OVERBECK J. Th. G., *Initiation à la chimie physique,* Masson et Cie, éd., 236 p., 1961. - MONTAGNA W., *The Structure and Function of Skin,* Acad. Press., New York, 356 p., 1956. - ODARTCHENKO N., *Production cellulaire érythropoïétique,* Springer-Verlag, éd., Berlin-Heidelberg-New York, 107 p., 1968. - WATSON J.D., *Biologie moléculaire du gène,* Édiscience, éd., Paris, 492 p., 1968.



▲ *A gauche, larve* « têtard » *d'ascidie : aspect du corps et d'une partie de la queue d'un animal* normal. *A remarquer, dans la région moyenne du corps, l'existence d'un « cerveau », la vésicule cérébrale, qui contient deux organes récepteurs pigmentés (mélanines dérivées de certains A. A.). A droite, têtard traité par la* 6-mercaptopurine *(2 × 10^{-4} M) et présentant une queue très courte déformée et un corps subnormal; mais la synthèse des mélanines cérébrales est totalement bloquée (à dose faible, la 6 MP bloque essentiellement le codage permettant la formation de tyrosinase, enzyme mélanisante).*

▼ A, *action comparative d'un analogue des purines sur des cultures normales et tumorales (d'après Rich et Eidinoff); les cellules normales sont des fibroblastes d'embryon de poulet : les cellules tumorales proviennent d'un cancer humain (lignée H. Ep. 1, Sloan Kettering Institute, N.Y.).* B, *la synthèse de ce ribotide (nucléotide) est un exemple de* « synthèse létale ». C, *action d'une* antipyrimidine.




Archives P2

▲ *Coupe longitudinale du tissu méristématique de la racine d'un* Allium : *voir les noyaux ; de plus, remarquer les* chromosomes *particulièrement beaux chez les végétaux durant la division cellulaire.*

▶ *Page ci-contre, coupe dans le tissu conjonctif d'un Invertébré ; mise en évidence des acides nucléiques par la* coloration au vert de méthyle-pyronine : *l'*ADN *est coloré en vert et les* ARN *en rose (noter l'abondance des* ARN *dans le nucléole).*

▶ *Mise en évidence de la* chromatine *de l'œuf d'*Ascaris megalocephala univalens ; *on a utilisé le* bleu de toluidine *(pH5) et « différencié » dans l'acide acétique, pour n'obtenir qu'une coloration chromatinienne (œuf observé* in toto*).*

J. Bouchard

STRUCTURES ET FONCTIONNEMENT CELLULAIRES

ORGANISATION DE LA CELLULE

Le noyau cellulaire

Le noyau existe dans toutes les cellules, à l'exception des Bactéries. Découvert à la fin du XVII[e] siècle, il ne fut guère décrit avec précision avant Heidenhain.

Observation du noyau en microscopie optique

Le noyau de la cellule vivante est observable avec n'importe quel type de microscope. Il peut être étudié très précisément chez des cellules cultivées.

Étude au microscope à contraste de phase

Le microscope à contraste de phase permet de bien observer les constituants du noyau vivant. La *membrane* nucléaire est très facile à voir ; elle entoure la *chromatine,* qui baigne dans un *suc nucléaire* hyalin ; de plus, le noyau contient souvent un ou plusieurs *nucléoles*. La réalité de la membrane peut être mise en évidence par microdissection de la cellule ; grâce à un micromanipulateur (principe de De Fonbrune), on peut extraire le noyau cellulaire de la masse cytoplasmique. La chromatine constitue des mottes de taille et de forme assez irrégulières, dispersées dans le suc nucléaire, mais dont un grand nombre sont en contact avec la membrane. Le nucléole, généralement subsphérique, est d'aspect granuleux ; en 1956, Chèvremont l'a décrit comme un « réseau ténu portant de petits granules plus ou moins groupés ».

Étude par la microcinématographie

La microcinématographie, technique qui permet une étude de la cinétique des constituants cellulaires, montre que les granulations se déplacent fréquemment et qu'elles entrent souvent en contact avec la membrane nucléaire ; dans ces cas, le nucléole émet des substances qui *traversent* la membrane nucléaire pour gagner le cytoplasme. Cette activité du nucléole et, parallèlement, son volume varient en fonction des conditions dans lesquelles se trouve la cellule observée (Frédéric, 1953).

Étude précise du noyau et de ses constituants : fixation puis coloration

— *Fixation*

L'étude du noyau peut être réalisée sur des coupes d'organes (donc de cellules) préalablement fixés. La fixation est une coagulation des particules colloïdales contenues dans la matière vivante ; elle peut être obtenue par différents facteurs physiques ou chimiques. Les images observables sont différentes suivant le type de fixateur utilisé. Chaque fixateur chimique possède, bien sûr, des propriétés différentes ; notamment, la vitesse de pénétration dans la cellule est un facteur fondamental ; de ce point de vue, l'acide acétique est un excellent fixateur, très pénétrant. Par ailleurs, les effets chimiques des fixateurs sont tels que ceux-ci ne permettent jamais la fixation de tous les constituants cellulaires dans des conditions satisfaisantes. Ainsi, l'acide acétique permet de fixer convenablement les éléments du noyau, mais détruit d'autres organites (les mitochondries cytoplasmiques par exemple).

Les meilleurs résultats sont obtenus grâce à des fixateurs oxydants où l'on a combiné différentes substances : les plus utilisées sont l'acide acétique, l'aldéhyde formique (formol), l'acide picrique, le bichromate de potassium, le chloroforme, l'alcool (ce dernier pénétrant mal dans la cellule, on ne peut donc l'utiliser seul), etc. On utilise de nombreux mélanges, auxquels on donne le nom de leur inventeur : Carnoy, Helly, Bouin, etc.

Un des meilleurs fixateurs est l'*acide osmique* (tétroxyde d'osmium, $Os\ O_4$) ; on l'emploie seul, mais il ne fixe que de très petits fragments d'organes car il est très peu pénétrant. Pour l'étude du noyau, on utilise fréquemment le *mélange de Bouin* (formol, acide picrique et acide acétique) ou de *Helly* (formol, bichromate de potassium et sel de mercure).

— *Colorations*

Les colorations doivent être adaptées au fixateur choisi ; on trouve à ce sujet des précisions essentielles dans le traité de Langeron. Il existe des colorations nucléaires simples, suffisantes pour distinguer les constituants. On utilise non seulement des produits basiques (bleu de méthylène, vert de méthyle), mais aussi des substances dont le mode d'action est quasiment inconnu : ainsi, l'*hématoxyline* est un colorant d'origine végétale, et cette « laque » ne se conduit pas simplement comme un colorant basique (Bloom et Fawcett, 1968).

— *Colorations spécifiques*

Pour une étude plus précise de la nature chimique des constituants du noyau, il est nécessaire d'utiliser certains colorants dont l'action est plus spécifique et mieux connue; les teintures peuvent être de véritables *tests d'histochimie*.

Ainsi, le **bleu de toluidine** se fixe uniquement sur les acides nucléiques de la chromatine et du nucléole; sa spécificité n'est pas très étroite, mais un artifice permet d'obtenir que seul l'ADN soit coloré; pour cela, on hydrolyse au préalable tout ce qui est ARN en utilisant la *ribonucléase*, puis, après lavage, on colore l'ADN au bleu de toluidine.

La **réaction de Feulgen**, plus utilisée que la précédente, permet de localiser directement l'ADN. Des cellules ou des coupes de tissus sont traitées par une solution d'acide chlorhydrique, destinée à provoquer une hydrolyse ménagée de l'ADN sans entraîner sa dépolymérisation : les conditions choisies sont telles que seules les bases puriques sont éliminées; l'ADN ne comporte plus alors que des bases pyrimidiques, dont la thymine, qui lui est spécifique. On procède alors à la coloration : le *réactif de Schiff*, leuco-dérivé de la fuchsine basique, peut alors se fixer sur les résidus de désoxyribose comportant encore la thymine et la cytosine; dans le même temps, il retrouve sa coloration initiale, rouge plus ou moins pourpre. Cette mise en évidence est une réaction typique en histochimie, et, si les conditions de travail sont strictement uniformisées, il est possible de doser la quantité d'ADN contenue dans un noyau en employant un système photométrique, dont le principe est assez simple. La valeur histochimique du test est facile à prouver : on utilise pour cela une enzyme, la *désoxyribonucléase*; les cellules traitées par cette enzyme ne peuvent plus être colorées par le réactif de Schiff, puisque l'ADN est alors totalement hydrolysé.

Enfin, par la **technique de Brachet** au *vert de méthyle* et à la *pyronine*, il est possible d'obtenir, en même temps, une coloration différentielle de l'ADN et de l'ARN d'un noyau : quand elle est convenablement appliquée, cette technique permet de colorer l'ADN en vert et l'ARN en rose.

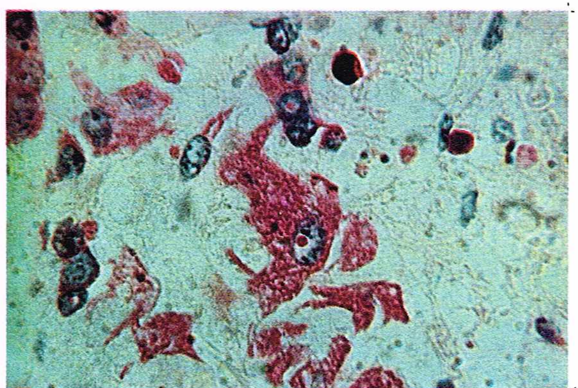
Les colorations classiques et celles d'histochimie mettent bien en évidence les acides nucléiques : on voit ainsi que la chromatine est Feulgen +, donc très riche en ADN, tandis que les nucléoles sont Feulgen —, donc riches en ARN. Dans certaines cellules, on peut mettre en évidence la présence d'ADN dans la partie corticale du nucléole, et il en existe de petites quantités à l'intérieur même de l'organite.

D'autres techniques d'histochimie peuvent être mises en œuvre pour localiser diverses substances du noyau; nous en citerons les résultats essentiels.

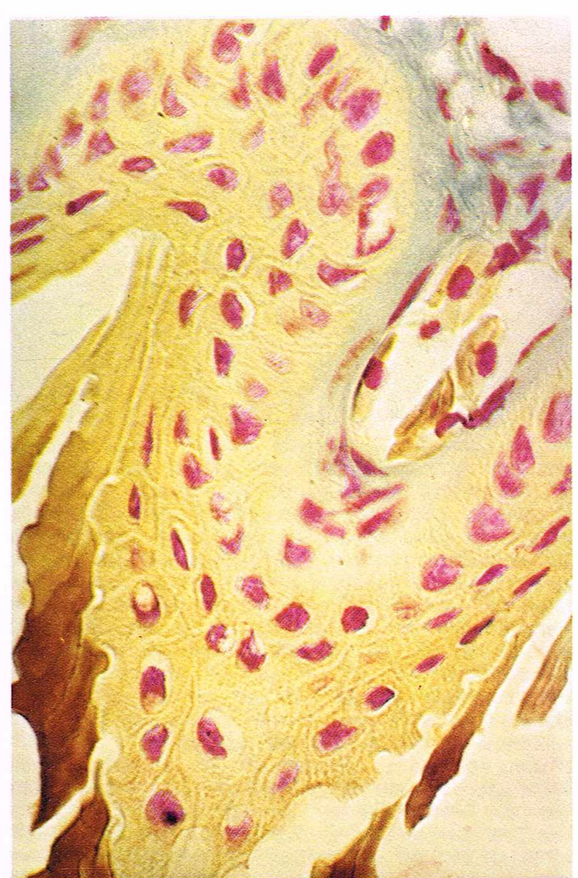
On peut constater que le noyau contient des protéines. Il y a des *protéines acides* et surtout une quantité importante d'*histones* (décelables par la technique au *fast-green*). Ces histones sont liées à la chromatine. Dans les spermatozoïdes, les *protamines* remplacent les histones.

Diverses enzymes peuvent être mises en évidence dans le nucléoplasme ou dans la chromatine et le nucléole. Ainsi, la *phosphatase alcaline*, ou *phosphomonoestérase alcaline*, est repérable; elle est d'autant plus abondante que l'activité cellulaire est plus grande.

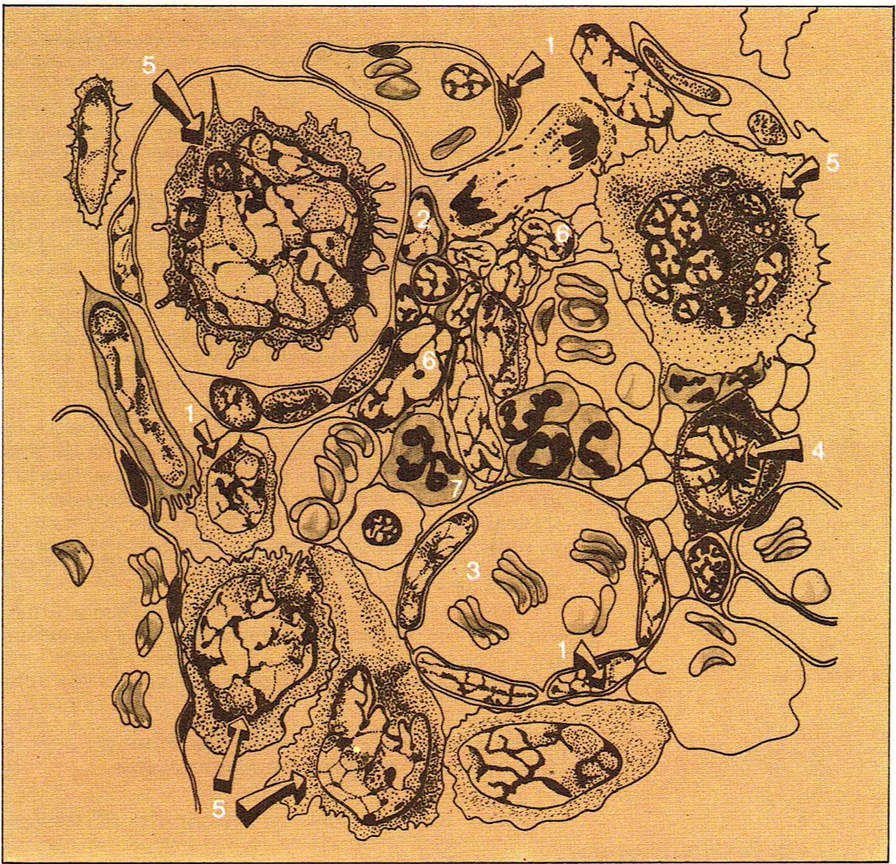
Certains auteurs ont montré qu'il existe des lipides dans le noyau, en particulier au contact de la chromatine (Gahen, 1965); ces *phospholipides* jouent un rôle important dans le maintien de l'architecture moléculaire de l'ADN lié aux histones par des ponts salins.



Laboratoire de biologie animale - Orsay. Pr Lender



Laboratoire de biologie des Vertébrés - Orsay



Richard Colin - document C. Bouchard

▼ A gauche, coloration des noyaux de cellules épidermiques par la réaction de Feulgen spécifique de l'ADN; peau, localement cornée, de crapaud (pustule). A droite, aspect du noyau dans divers types de cellules (champ combiné); coupe de moelle osseuse (souris) : la coloration à l'hématoxyline, après utilisation d'un fixateur acide, permet d'observer aisément le noyau mais rend impossible l'étude des organites cytoplasmiques (microscopie optique). 1, épithélium d'un capillaire ou endothélium; 2, cellules jeunes de la lignée érythrocytaire (blastes); celle-ci donne les globules rouges ou hématies; 3, hématie (anucléée); 4, cellule mère des mégacaryocytes qui sont à l'origine des plaquettes sanguines; 5, mégacaryocyte; 6, cellule de la lignée histio-monocytaire; 7, globule blanc « polynucléaire ».

▶ *Page ci-contre, en haut : à gauche, mise en évidence de* **noyaux** *de cellules animales (larve d'Amphibien) par une* **coloration** *topographique ; à droite, coupe de ganglion sympathique de souris : le nucléole est visible dans le noyau de plusieurs cellules nerveuses. On voit ici que sa colorabilité n'est pas homogène : de la chromatine lui est associée (coloration topographique).*

— *Autres techniques de localisation*

On utilise assez souvent l'observation en **lumière ultraviolette** pour mettre en valeur les acides nucléiques. L'orange d'acridine provoque une belle fluorescence de la chromatine et du nucléole. Certaines techniques permettent le dosage de l'ARN ou de l'ADN. Il s'agit donc de réactions aussi fructueuses que, par exemple, celle de Feulgen. Nous y reviendrons lors de l'étude des chromosomes.

La **micro-incinération** de cellules (à une température de 500 à 600 °C) permet de localiser les éléments minéraux les plus abondants de la cellule. Cette méthode fut très utilisée par Policard (1931-1940), Scott (1933-1943) et Gage (1938). Elle demande beaucoup d'habitude, car il faut distinguer les éléments en déterminant la couleur des cendres visibles au microscope. Ainsi, Policard a pu montrer que, dans la cellule, le noyau est une véritable réserve de calcium, ce qui a confirmé les résultats obtenus grâce à des méthodes histochimiques, parfois discutées (Lison).

On utilise maintenant la **microsonde électronique** (sonde de Castaing) pour localiser les éléments minéraux dont le coefficient d'absorption est très spécifique. Le calcium est solidement associé à l'ADN de la chromatine ; comme le fait remarquer Favard, il ne peut être extrait du noyau qu'en détruisant l'ADN par la désoxyribonucléase. Il y a d'autres éléments dans le noyau, en particulier le magnésium, activateur de la phosphatase (Chèvremont). L'existence de Fe^{++}, Co^{++} et Zn^{++} doit être notée, car ces ions bivalents modifient la configuration des nucléoprotéines (Kabat, 1967), ce qui peut être important, en particulier, lors de la division cellulaire.

Analyse chimique de noyaux

Il ne s'agit pas, cette fois, d'une étude microscopique, mais d'une analyse chimique des « fractions noyaux » obtenues par élimination du cytoplasme, centrifugation et purification des noyaux d'un grand nombre de cellules, toutes identiques.

Pour cela, on broie un fragment d'organe dans un milieu convenable, contenant du saccharose et des ions Ca^{++} (la membrane nucléaire n'est pas nettement lésée) ; ensuite, on effectue une centrifugation différentielle qui permet d'obtenir la fraction contenant les noyaux. Après purification, cette fraction est analysée selon les méthodes décrites dans les chapitres précédents.

Cette analyse confirme et précise tout ce qui est observé avec les méthodes d'histochimie. Comme le remarque Favard, les proportions de chacun des constituants chimiques ne sont pas les mêmes suivant le type cellulaire étudié. Par exemple, le noyau du spermatozoïde renferme environ 60 % d'ADN, alors que celui d'une cellule femelle mûre, l'ovocyte, n'en contient que 1 %.

Pour un type cellulaire donné, les proportions d'ADN, d'ARN et de protéines basiques sont fixes, comme on s'en rend compte en analysant les noyaux de cellules hépatiques de plusieurs individus de la même espèce. Cette observation confirme l'étroite interdépendance de ces trois groupes moléculaires. Notons qu'il est difficile de chiffrer la quantité de protéines acides présentes dans le noyau ; en effet, il s'agit d'enzymes et de protéines de structure qui résistent mal au fractionnement des constituants cellulaires.

Si l'on compare les valeurs absolues d'ADN contenues dans les noyaux de différents types cellulaires, on constate que, pour une espèce donnée, les chiffres sont toujours très voisins, sauf en ce qui concerne les cellules sexuelles. Chez le coq, il y a environ $2{,}5 \cdot 10^{-9}$ mg d'ADN par noyau de *cellule somatique,* alors que le noyau du spermatozoïde, *cellule germinale* mâle, n'en contient que $1{,}26 \cdot 10^{-9}$ mg, soit la moitié de la valeur précédente.

L'étude des ions qui sont liés à l'ADN peut être effectuée avec précision ; le système qui permet le dosage de cations par « redissolution anodique » fournit des résultats intéressants, qui ne pourraient pas être obtenus d'une autre manière.

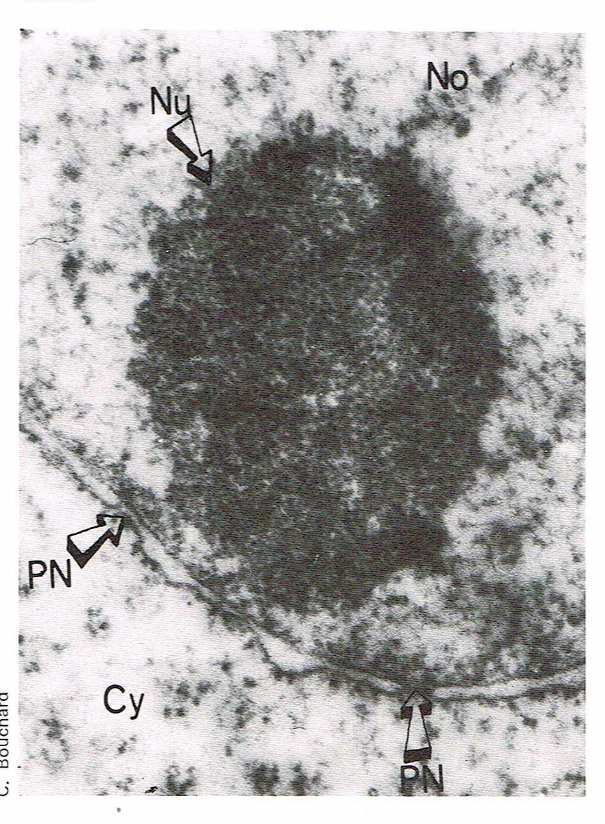
Étude structurale et aperçu fonctionnel du noyau en microscopie électronique

Le contenu du noyau

L'étude de la cellule au *microscope électronique* implique une fixation préalable. De plus, il convient de « colorer » les structures afin d'augmenter les contrastes. La fixation et la préparation sont des techniques délicates qui demandent énormément de soin et de patience. L'*acide osmique* est un bon fixateur ; on l'utilise généralement après un passage de la pièce à fixer dans une solution de *glutaraldéhyde*. Les durées de fixation et les concentrations dépendent directement du type cellulaire étudié.

La préparation des pièces demande plusieurs lavages par des *solutions tampons,* qui préviennent tout gonflement ou toute rétraction des organites cellulaires. En fait, s'il existe des principes communs, chaque chercheur doit adapter le traitement de ses pièces à la nature des structures qu'il veut analyser dans tel ou tel type cellulaire.

L'observation de préparations fixées ne donne jamais de grands contrastes en microscopie électronique : les images obtenues sont généralement très grises. Il convient donc de « colorer » ces préparations (le terme n'est pas très adéquat puisque le faisceau électronique ne donne que des images en noir et blanc). On n'utilise guère que trois ou quatre techniques différentes : la coloration à l'*acétate d'uranyle* permet une excellente observation des membranes cellulaires ; le *citrate de plomb* met en valeur les autres constituants, la chromatine, le nucléole ou les ribosomes ; on utilise parfois une solution de *bichromate de potassium,* qui fournit en particulier de bonnes images des membranes ; enfin, la *double coloration* à l'*acétate d'uranyle* et au *citrate de plomb* est universellement utilisée.



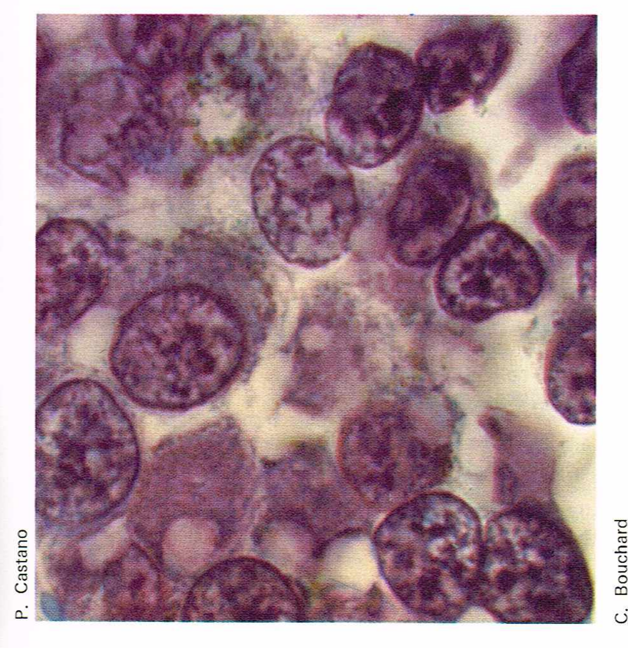
C. Bouchard

▶ **Nucléole** *d'une cellule d'ascidie observé à fort grossissement ; on y voit très nettement les amas de particules d'*ARN **ribosomique** *(microscopie électronique). No, noyau ; Nu, nucléole ; Pn, pore nucléaire ; Cy, cytoplasme.*

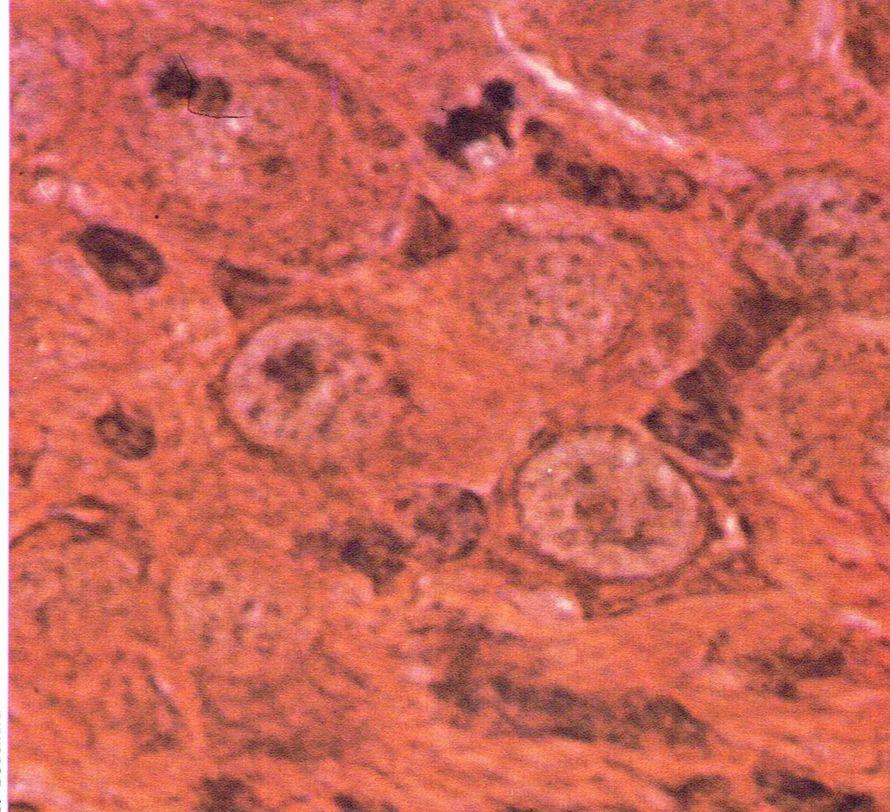
L'ultrastructure du *nucléoplasme* est « très simple » puisqu'il s'agit d'un gel de protéines dont la configuration n'est pas décelable. Cependant, de place en place, au contact de la membrane nucléaire, le nucléoplasme est plus dense aux électrons (la nature et les fonctions de ces zones posent des problèmes). On estime que la dégradation des sucres se produirait au niveau du nucléoplasme.

Ce qui frappe essentiellement quand on observe l'ultrastructure d'un noyau, c'est l'abondance de la *chromatine*. Il est toutefois difficile d'analyser précisément les images ; en effet, on y distingue une structure fibrillaire, dont il semble impossible de comprendre l'organisation. Selon Favard, « il n'y a aucun moyen d'en relier les aspects morphologiques aux données biochimiques ».

Dans l'ensemble, il faut constater qu'à l'heure actuelle la structure fine du matériel génétique ne peut pas être comprise avec l'aide du microscope électronique. Les résultats obtenus avec un matériel particulièrement favorable, tel que des spermatozoïdes en formation, laissent espérer que des précisions seront obtenues dans l'avenir ;



P. Castano



C. Bouchard



J. Bouchard

Les résultats obtenus grâce aux techniques d'observation et aux techniques biochimiques permettent donc d'avoir une idée de la structure du contenu des noyaux.

Bref aperçu fonctionnel

De ces résultats, les spécialistes peuvent tirer des conclusions concernant le mode de fonctionnement de la chromatine et du nucléole.

On sait que l'ADN contient l'information génétique ; le cas le plus « simple » est celui des Bactéries dont la chromatine est seulement faite d'un long filament d'ADN très replié. Chez les Eucaryotes, la chromatine est associée non seulement à des protéines mais aussi à de l'ARN ; cela ne peut être constaté que par l'analyse chimique.

Dans la cellule qui ne se divise pas, l'ADN est métaboliquement stable, ainsi qu'on a pu le montrer grâce à l'emploi de précurseurs marqués. Par contre, la chromatine synthétise continuellement les ARN ; ceux-ci passent dans le cytoplasme (rappelons cependant que des synthèses protéiques peuvent s'effectuer déjà dans le noyau). Enfin, le nucléole, typique des Eucaryotes, est un lieu d'accumulation d'ARN précurseur d'ARN ribosomiques ; cet ARN, synthétisé au contact de la chromatine, a une composition en bases très voisine de celle des ribosomes.

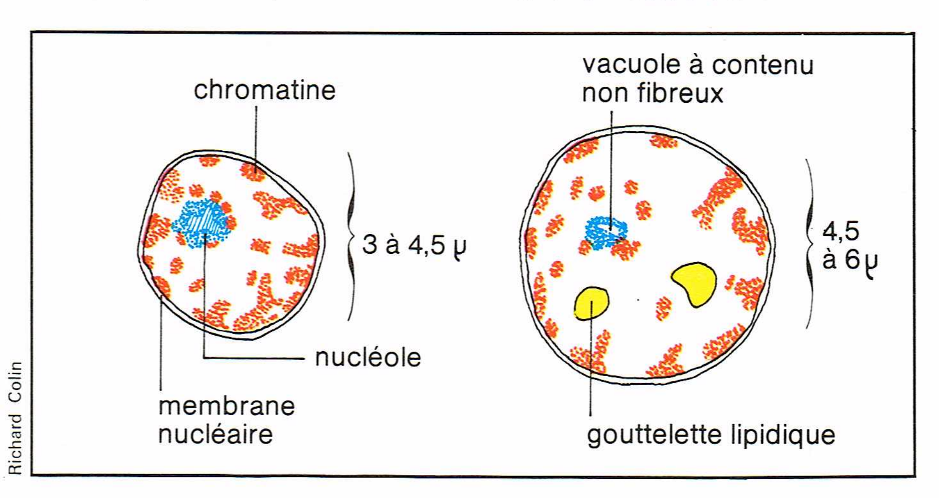
La connaissance précise de la structure du noyau est indispensable pour l'étude de nombreux problèmes, notamment ceux des modifications nucléaires qui apparaissent dans les cellules tumorales ou dans les cellules d'animaux traités par des pesticides tels que le DDT. En 1974, D. David a montré quelles sont les conséquences d'un traitement des œufs d'Oiseaux par le DDT. Cet auteur souligne, dans le noyau, l'appauvrissement du nucléoplasme et une réduction de la taille des nucléoles, qui sont susceptibles de perdre leur structure typique ;

◀ *Aspect ultrastructural* **du noyau** *d'une cellule de Mammifère :* **nucléoplasme** *finement granuleux ; masses de* **chromatine** *polymorphes et dispersées, mais souvent en contact avec la* **membrane nucléaire** *;* **nucléole** *repérable : structure particulière par rapport à la chromatine.*

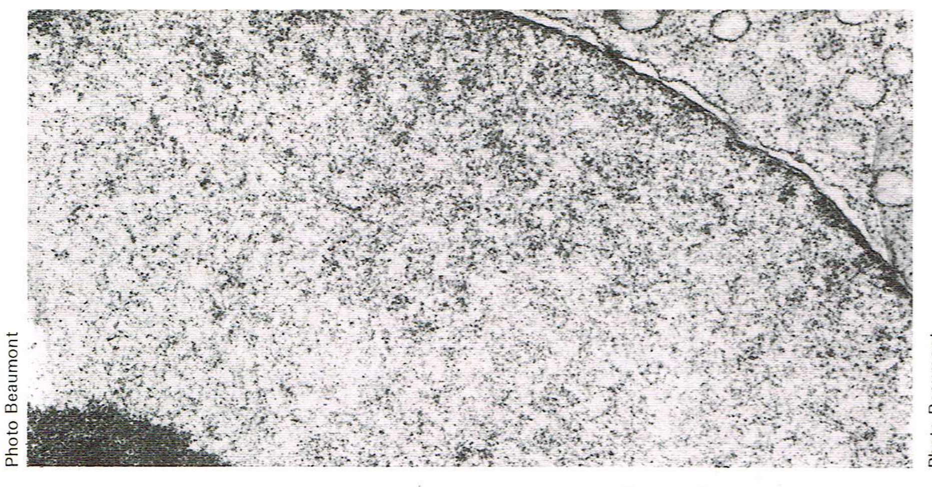
▼ *Un exemple de modification de la structure du noyau après* **intoxication** *de la cellule par un* **insecticide**, *ici le DDT : on y observe un œdème nucléaire, la formation de gouttelettes lipidiques et la réduction de la taille du nucléole qui peut se vacuoliser. En rouge, ADN associé au nucléole ; en bleu, ARN granulaire ; en bleu-vert, ARN central* **fibreux**, *associé à des protéines.*

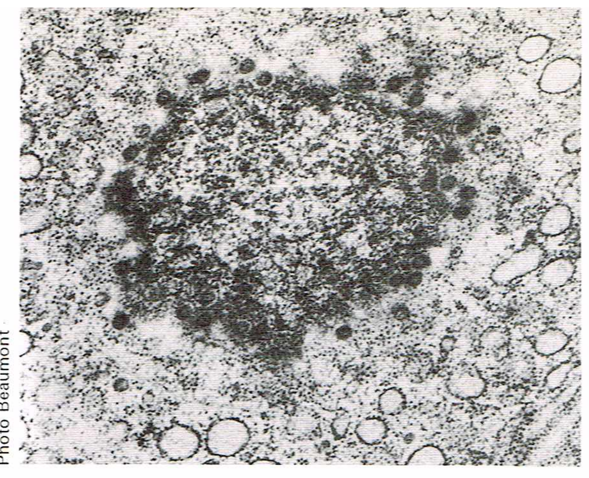
on a des raisons de penser que les filaments observés dans les noyaux des cellules fixées à l'osmium correspondent à des nucléo-histones. Il convient de perfectionner les techniques de fixation ; cependant, si le microscope peut encore être amélioré, il faut ne pas oublier que le pouvoir séparateur ne peut pas être augmenté indéfiniment.

Dans le cas des *nucléoles,* les résultats sont plus satisfaisants : on observe, à l'intérieur d'une masse spongieuse constituée de fibres et de particules, un réseau de nucléoplasme contenant de la chromatine. Il est possible d'effectuer, à partir d'une quantité importante de noyaux dont on extrait les nucléoles, une analyse chimique du nucléole permettant d'interpréter les données ultrastructurales ; cette analyse nécessite la préparation d'une « *fraction nucléoles* » purifiée. On peut alors confirmer les données d'histochimie : on constate que ces organites contiennent essentiellement de l'ARN, lequel correspond aux éléments particulaires du nucléole. On estime, d'autre part, que les éléments fibrillaires disposés au contact des particules d'ARN sont des protéines associées.



Richard Colin


Photo Beaumont

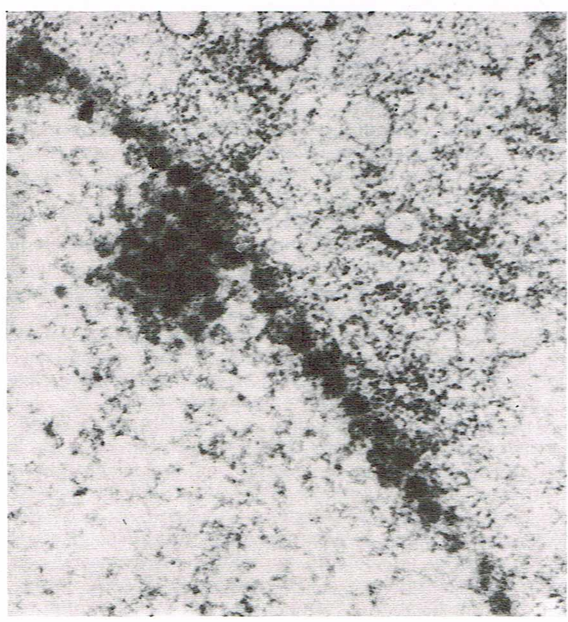

Photo Beaumont

▲ *A gauche, coupe de la* double membrane nucléaire *d'une cellule d'Amphibien : remarquer, à gauche, les granulations cytoplasmiques disposées tout au long de la membrane externe (ribosomes) ; cytoplasme riche en éléments cavitaires. A droite, coupe tangentielle de la membrane nucléaire montrant les* pores nucléaires : *cercles sombres à cœur clair comportant un point central plus dense.*

▶ *Remarquer la densité des* pores nucléaires *sur une coupe localement tangentielle de noyau de cellule d'ascidie.*

▼ *Passage du matérie nucléaire dans le cytoplasme (cellule souche de spermatozoïde d'ascidie). Ici,* « l'émission nucléaire » *se fait à travers trois points (pores) de la membrane nucléaire ; cela suggère que les ARN puissent migrer essentiellement à travers les pores.*

l'ensemble des résultats montre une diminution de l'activité du noyau pouvant aller jusqu'à l'involution de la chromatine ; ces troubles, qui surviennent parallèlement à de graves anomalies de l'embryogenèse (des hémorragies hépatiques ou des malformations diverses), peuvent être à la base de la mortalité des Oiseaux constatée en laboratoire par les scientifiques (Lutz, Meiniel, Roux, etc.) ou sur le terrain par les chasseurs, les éleveurs et d'autres chercheurs (Ramade, Boulekbache, etc).


C. Bouchard

C. Bouchard

Le problème de la membrane nucléaire

Le noyau contient le matériel génétique fondamental de la cellule ; il en est le centre biochimique et, si l'on peut dire, la capitale économique. Si la chromatine permet la synthèse de très nombreuses substances, qui migrent ensuite dans le reste de la cellule, ce phénomène dépend toutefois d'un afflux préalable de différents matériaux qui s'accumulent dans le noyau. Le noyau est donc un lieu de transit, lequel s'effectue à travers une *membrane,* dont les caractères sont intéressants.

Les images de microscopie électronique montrent que la membrane nucléaire est toujours double et qu'il existe, entre la membrane interne et la membrane externe, un espace périnucléaire nettement distinct.

L'ultrastructure de cette membrane n'est pas simple. En effet, avec un agrandissement de 160 000 à 250 000, on voit qu'elle est faite de feuillets qui, selon Northcote, lui donnent une épaisseur d'environ 40 Å. L'analyse chimique de fractions de membranes nucléaires a permis de voir qu'elles contiennent essentiellement des phospholipides et des protéines. On ne connaît pas, par contre, la nature du contenu de l'espace périnucléaire ; Favard note que celui-ci peut contenir des granulations, voire des gouttelettes de lipides ; si le transit de certaines substances semble donc se faire directement à travers les réseaux phospho-lipo-protéiques, il faut ajouter que la membrane nucléaire est percée d'un grand nombre de *pores,* dont la taille varie suivant les espèces et la nature des cellules étudiées.

Les pores sont bien observables sur des coupes tangentielles au noyau ; ils le sont encore mieux sur des préparations de membranes isolées, puis disposées perpendiculairement au faisceau d'électrons ; il s'agit là d'une technique extrêmement délicate et très intéressante (Comings et Okada, 1970). On constate ainsi que le nombre de pores par μ^2 est en moyenne de 50, et que le pore est une structure bien organisée, fort différente d'un simple trou. Le diamètre des pores est toujours grand, ce qui tendrait à faire penser que n'importe quelle substance chimique peut emprunter de tels goulets pour passer du cytoplasme vers le noyau, ou inversement, mais il n'en est rien. Comme l'écrit Favard, « il existe à l'intérieur des pores une substance qui n'apparaît pas morphologiquement différente du nucléoplasme et qui joue le rôle de filtre ». En effet, des expériences montrent que des microparticules injectées dans une cellule se concentrent d'abord à l'extérieur de la membrane nucléaire, puis pénètrent dans le noyau, à condition que leur diamètre soit nettement inférieur à celui des pores (Feldherr, 1965). La charge électrique au niveau des membranes, en particulier des pores, est certainement un facteur essentiel pour la sélection des substances pouvant transiter. On le voit, une étude approfondie des pores est devenue nécessaire (Markovics et coll., 1974).

Enfin, il faut préciser que les pores sont en contact direct avec le matériel chromatinien. Cela peut apparaître sur des coupes totales des cellules les plus diverses, et la relation est évidente sur des membranes étalées (Comings et coll., 1970). Dans ce dernier cas, on observe que la chromatine est disposée en étoile autour des pores. On peut penser que la relation entre la chromatine et les pores nucléaires n'est pas seulement topographique, et l'on est tenté de croire que l'évacuation des ARN se fait à travers les pores ; toutefois, ce passage dans le cytoplasme nécessite un travail de la part de la cellule puisque l'abaissement de la température et, en général, toute diminution de l'activité métabolique d'une cellule provoquent un arrêt du transit des ARN vers le cytoplasme ; on ne sait donc pas comment s'effectue le passage de telles substances, qui ne migrent pas par simple diffusion.

Laboratoire de biologie des Vertébrés - Orsay

Le compartiment cytoplasmique

Le compartiment cytoplasmique présente une structure extrêmement complexe, et les organites qu'il contient varient considérablement suivant l'être vivant que l'on étudie, et même suivant le type cellulaire. Sur le plan de l'organisation, le noyau est un compartiment simple, alors que le cytoplasme, par sa diversité, peut caractériser, différencier, telle ou telle cellule particulière.

Il faut donner une définition du *milieu* dans lequel baignent les *organites* cytoplasmiques avant de décrire, très schématiquement, la structure de ces organites, puis leurs fonctions respectives.

Le hyaloplasme

Le hyaloplasme est une masse vitreuse dont la consistance (gel ou sol) peut varier considérablement suivant les conditions ambiantes. Du point de vue chimique, il est totalement impossible d'en donner une définition; la nature de ses constituants et leurs proportions sont éminemment variables.

On a dit que le hyaloplasme est « optiquement vide ». Cette définition donnée par les anciens microscopistes est encore valable : en effet, la plupart des molécules qui constituent le hyaloplasme ne peuvent même pas être mises en évidence par un faisceau d'électrons.

Cependant, depuis longtemps, on a décelé des substances réagissant de façon plus ou moins caractéristique avec certains colorants d'histochimie. Ainsi, le glycogène apparaît sous forme de grains ou de flaques roses ou rouges après un traitement oxydant et une coloration par le réactif de Schiff; divers lipides peuvent être décelés par des colorants, comme le noir Soudan. Les réactifs spécifiques des ARN donnent une coloration de fond légère : le hyaloplasme contient 10 à 20 % de l'ARN total de la cellule (ARNm et ARNt). L'abondance des protéines peut être mise en valeur par le jaune naphtol S (Deitch, 1966). Divers procédés d'histochimie permettent d'évaluer l'abondance de telle ou telle substance dans le hyaloplasme. En microscopie électronique, les techniques sont plus délicates.

Il est essentiel de souligner que le hyaloplasme est le *carrefour* de la plupart des voies métaboliques. C'est le réseau colloïdal du hyaloplasme qui établit le contact entre le noyau et les divers organites cytoplasmiques, véritables usines de la cellule. De plus, il existe toute une série de phénomènes métaboliques dont l'essentiel se passe au sein du hyaloplasme, et qui s'effectuent grâce à une grande diversité d'enzymes.

Les organites cytoplasmiques et la membrane cellulaire

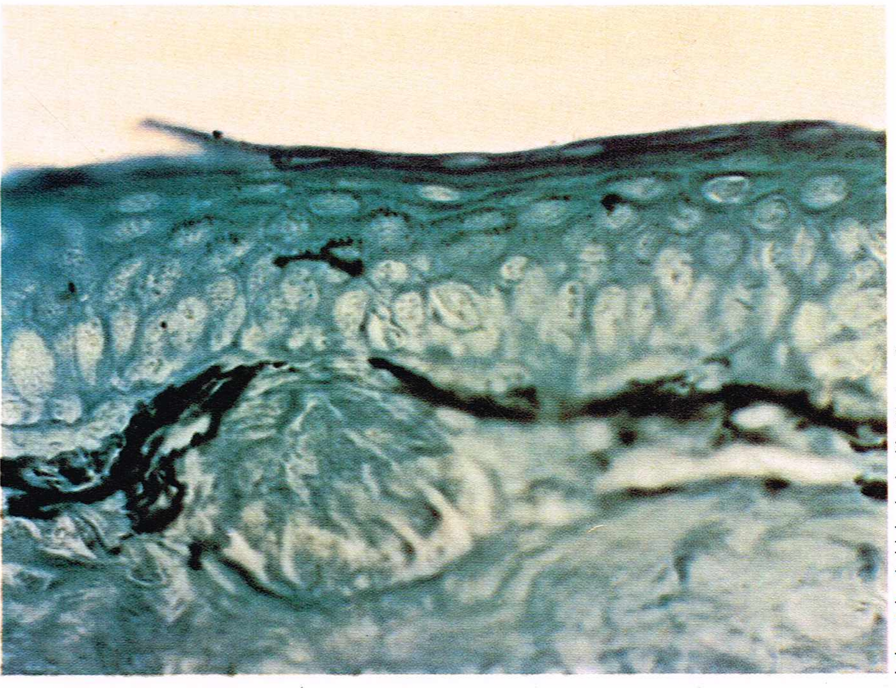
Les ribosomes

Une partie des ARN qui migrent dans le cytoplasme s'associent pour former les *ribosomes*.

Ceux-ci ne sont pas visibles au microscope optique. Palade les découvrit en 1953, lorsque l'on commença à obtenir de bonnes images en microscopie électronique. Les ribosomes peuvent être observés dans toutes les cellules, après une fixation à l'acide osmique. Ils sont subsphériques et ont une taille moyenne de 150 Å. Leur nombre est extrêmement variable suivant le matériel étudié; ils sont particulièrement abondants, par exemple, dans le cytoplasme des cellules pancréatiques ou dans les cellules génératrices des globules sanguins. Ils peuvent être isolés dans le hyaloplasme ou bien former des amas, ou *polysomes*.

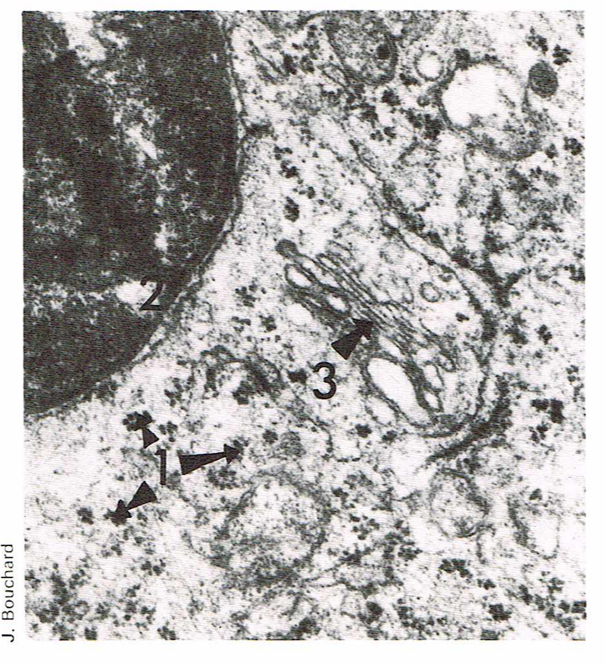
▲ ***Coupe d'hypophyse d'Amphibien, colorée par la technique de Herlant; on voit nettement que l'antéhypophyse est faite de cellules très différentes les unes des autres par leur cytoplasme.***

▼ ***Localisation des protéines sulfhydrilées dans l'épiderme d'Amphibien (elles sont très abondantes dans le cytoplasme); à la base de l'épiderme, la mélanine (noire) contenue dans les cellules pigmentaires délimite bien l'épiderme du derme (coloration selon la méthode de Chèvremont).***



Laboratoire de biologie des Vertébrés - Orsay

▶ Polysomes *d'une cellule de Mammifère (tumeur pulmonaire) : 1, coordonnées des polysomes les plus nets ; 2, noyau ; 3, corps de Golgi (microscopie électronique).*



J. Bouchard

L'étude précise du ribosome, qui nécessite un grossissement voisin de 200 000, montre qu'il est fait de deux sous-unités. L'aspect des ribosomes correspond-il bien à une structure réelle, ou s'agit-il d'un artefact de fixation ? C'est la première hypothèse qui est correcte. En effet, l'aspect de ces organites est remarquablement homogène quel que soit le type de cellule choisi et quelle que soit la fixation ; de plus, les biochimistes montrent que l'activité biochimique des particules de 150 Å de diamètre, sédimentées par ultracentrifugation, est toujours la même.

L'analyse des fractions ribosomes montre que les ribosomes des Bactéries contiennent 50 % d'eau et que la proportion est de 80 % chez les Eucaryotes. Ils sont essentiellement constitués d'ARNr et de protéines associées dont les proportions sont fixes pour un type cellulaire donné.

Les deux sous-unités des Eucaryotes, de taille inégale, sont plus lourdes que celles des Bactéries : 60 S et 40 S contre 50 S et 30 S. En fait, chaque sous-unité contient une seule chaîne d'ARNr, celle-ci étant un peu plus lourde chez les Eucaryotes. On trouve aussi dans les ribosomes une petite proportion d'ARN 5 S.

Enfin l'analyse a permis de constater qu'il existe, dans les polysomes, une chaîne d'ARN messager qui sert de support aux ribosomes ; d'excellentes préparations montrent en effet un filament de 15 Å de diamètre, sur lequel les ribosomes sont régulièrement disposés.

Les systèmes cavitaires

Divers types de cavités, limitées par des membranes, peuvent être observés dans la cellule fixée.

Le réticulum endoplasmique

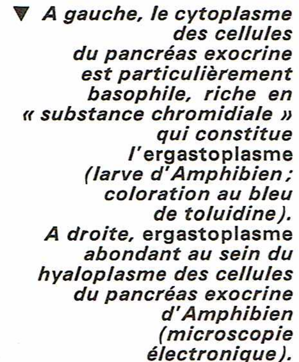
La structure du réticulum endoplasmique fut progressivement décrite à partir de 1945-46. Les premières observations, dues à Porter et Palade, furent faites au microscope électronique : s'il est possible de déceler ce système grâce au microscope à lumière, celui-ci ne permet pas d'en analyser la structure.

Les anciens histologistes avaient constaté que divers types de cellules comportaient dans leur cytoplasme ce qu'ils appelaient un *ergastoplasme,* ou substance chromidiale. Ainsi, dans une cellule de glande salivaire ou de pancréas, on peut mettre en évidence un ergastoplasme très basophile, qui occupe une grande partie du cytoplasme. Les images que l'on obtient après fixation au liquide de Bouin et coloration au bleu de toluidine sont particulièrement démonstratives. Or, les résultats sont très différents avec d'autres fixateurs ; suivant les cas, la coloration peut être diffuse ou bien se répartir comme si les corps basophiles constituaient des lamelles. C'est pourquoi, en 1956, Chèvremont insistait sur le fait que l'aspect de l'ergastoplasme décrit correspond à un artefact ; il notait, en outre, que le terme d'ergastoplasme était employé par certains spécialistes du microscope électronique lorsqu'ils parlaient d'un système d'apparence lamellaire ou membraneuse (Claude, 1954). Il y avait donc une imprécision quant à l'utilisation du terme ergastoplasme. En fait, le réticulum endoplasmique représente une partie de cet ergastoplasme qu'il est si facile de déceler en microscopie ordinaire, même si l'image est fausse...

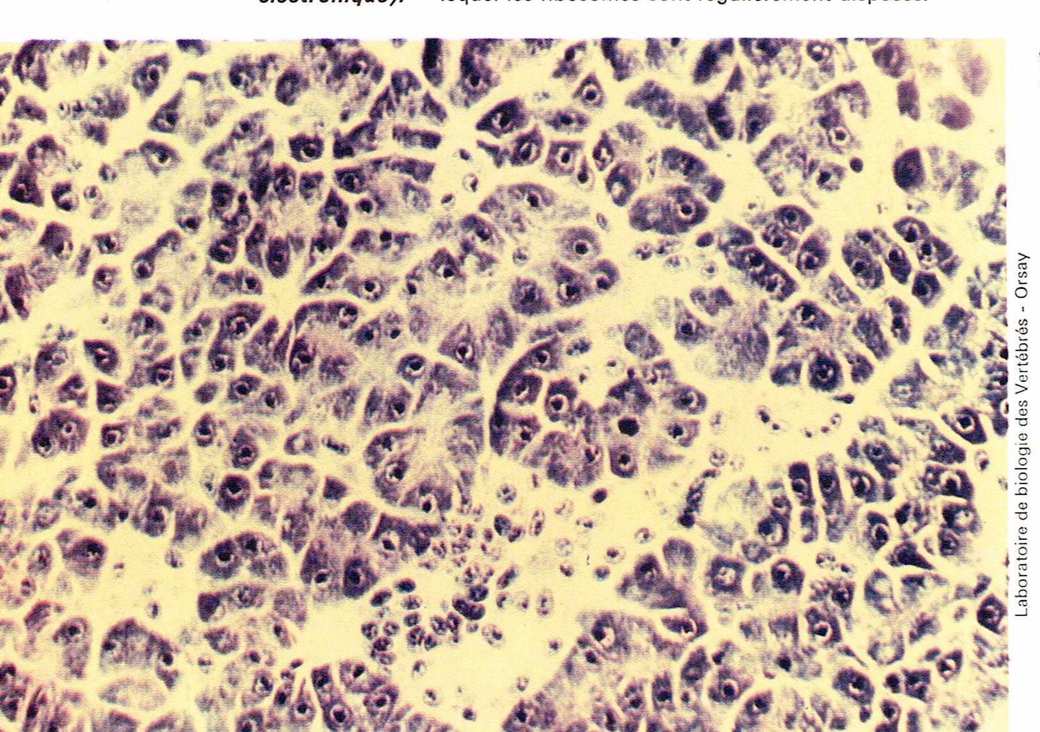
Après les premières observations de Porter et Palade, divers chercheurs mirent en évidence des lamelles dans plusieurs types de cellules (Dalton et coll., 1950 ; Oberling et coll., 1951 ; Palade, 1952 ; Sjöstrand, 1953). Il devint clair que toutes les cellules des Eucaryotes possèdent ce système de lamelles, voire de tubules, dont le polymorphisme est un des caractères frappants. D'après Chèvremont, ces lamelles sont souvent associées à « des grains extrêmement ténus » qui ne sont autres que des ribosomes.

En fait, l'ergastoplasme correspond à une partie des lamelles du réticulum endoplasmique, sur lesquelles s'accumulent de très nombreux ribosomes riches en ARN, substance très basophile.

Dans leurs recherches, les cytologistes furent beaucoup aidés par les biochimistes. Dès 1938, Claude avait pu isoler une fraction *microsomes* en centrifugeant à 18 000 g pendant 1 heure. Bien des auteurs constatèrent alors l'existence des microsomes dans tous les types cellulaires et montrèrent que ces corps contiennent une assez grande variété de molécules et que l'ARN y est abondant. On en vint à penser que les microsomes étaient le résultat de la fragmentation du système lamellaire dont nous avons parlé.



▼ *A gauche, le cytoplasme des cellules du pancréas exocrine est particulièrement basophile, riche en « substance chromidiale » qui constitue l'ergastoplasme (larve d'Amphibien ; coloration au bleu de toluidine). A droite, ergastoplasme abondant au sein du hyaloplasme des cellules du pancréas exocrine d'Amphibien (microscopie électronique).*



Laboratoire de biologie des Vertébrés - Orsay



A. Beaumont

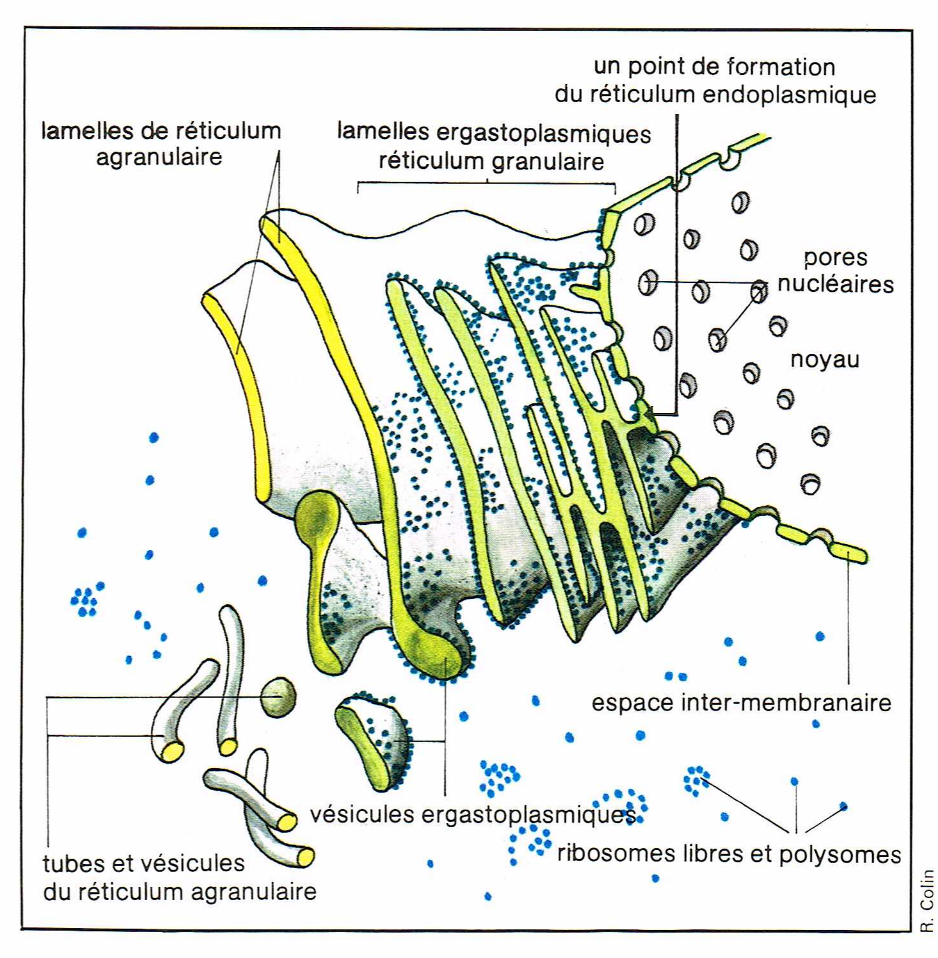
La structure lamellaire et vésiculaire du réticulum n'est-elle pas un artefact dû aux traitements que l'on fait subir aux cellules? Après les travaux de Fauré-Frémiet, de Bessis, de Lehmann, de Chèvremont et de Vendrely, qui travaillaient tous sur le cytoplasme de cellules fixées mais préalablement étalées (cellules macrophages, amœbocytes, cellules sanguines), J.-P. Thiéry put montrer que *les lamelles du réticulum existent bien dans les cellules vivantes;* en observant en lumière UV des cellules sanguines (plasmocytes), il montra que la structure lamellaire du réticulum était parfaitement visible et bien soulignée par le revêtement des ribosomes, qui absorbent considérablement les courtes longueurs d'onde (1963). D'autre part, grâce au microscope polarisant, on put constater que le cytoplasme de cellules vivantes comporte un matériel biréfringent, donc nettement orienté.

La structure fine du réticulum endoplasmique est maintenant bien connue. Il s'agit de cavités, de forme très variable, limitées par une membrane. Celle-ci est absolument identique à celle du noyau. Par contre, selon Northcote, elle est en général moins épaisse que la membrane cytoplasmique, ou *plasmalemme* (25 à 40 Å au lieu de 75 Å). Ces cavités sont souvent aplaties, et leur épaisseur est inférieure à 500 mμ. Mais elles peuvent être tubulaires ou former franchement des vésicules.

On constate parfois qu'il existe des liens étroits entre le système contenu dans le hyaloplasme et la double membrane nucléaire : celle-ci semble bourgeonner des tubules ou des lamelles de réticulum. En fait, l'espace périnucléaire n'est qu'une *différenciation* des cavités du réticulum : les membranes nucléaires et celles du réticulum sont de nature et d'origine identiques. Rappelons que les membranes nucléaires sont percées de pores d'environ 500 Å ; des pores du même type peuvent exister dans les membranes d'éléments du réticulum *(sensu stricto).* On peut se poser des questions quant aux fonctions des lamelles qui sont ainsi perforées *(lamelles annelées) ;* elles existent dans le cytoplasme de divers ovocytes (Favard, 1958 ; C. Bouchard, non pub.), ou dans des cellules pancréatiques en croissance (Beaumont, 1972 ; Magnier, 1974).

Le réticulum endoplasmique peut présenter deux aspects : il peut être *granulaire* ou *agranulaire ;* en effet, les membranes ne sont pas toujours tapissées par des ribosomes disposés côte à côte, à la face externe. Le réticulum agranulaire, ou lisse, peut être extrêmement abondant ; c'est le cas des cellules interstitielles du testicule, par exemple, ou de celles que l'on trouve dans diverses glandes endocrines.

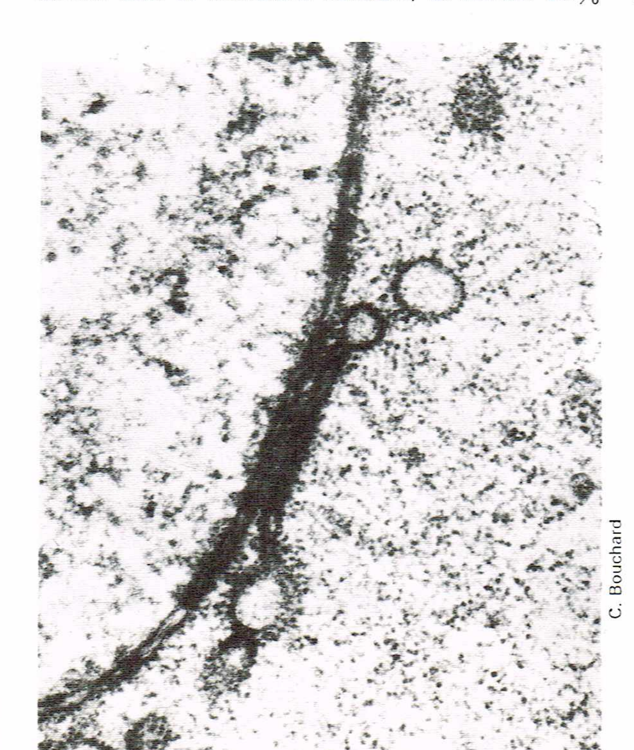
Un mot de la constitution chimique du réticulum. La nature de la membrane du réseau est remarquable. Elle a été déterminée à partir de la fraction microsomes, où l'on a éliminé les ribosomes par action du désoxycholate de sodium (émulsifiant) suivie d'une nouvelle centrifugation à 20 000 g. On trouve ainsi 35 % de phospholipides, comme dans la membrane nucléaire, et environ 60 %

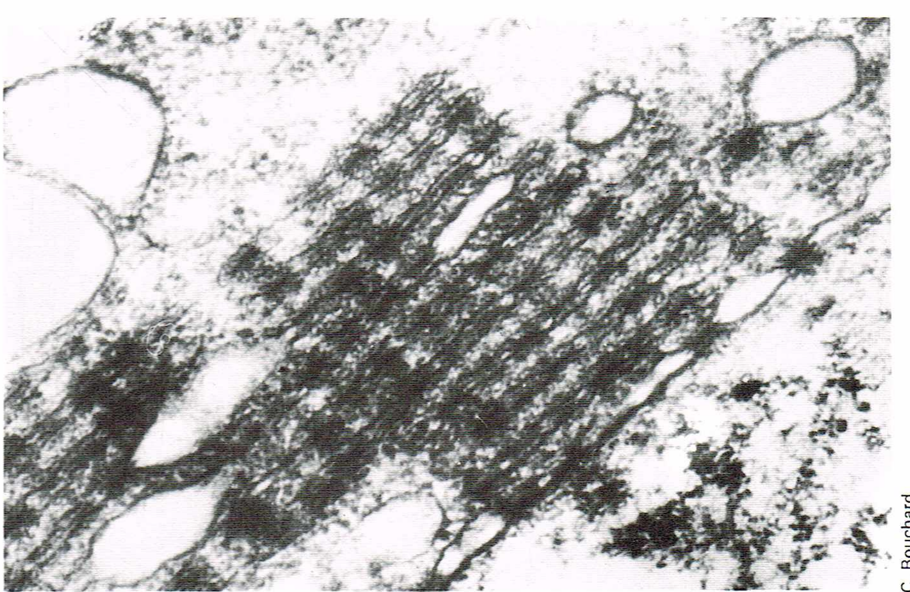


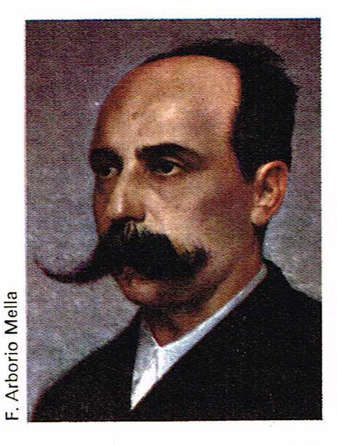
▲ ***Représentation schématique montrant les rapports entre le noyau et le* réticulum endoplasmique *; on voit ici divers aspects de ce dernier.***

▼ ***A gauche,***
aspect du noyau d'un ovocyte d'ascidie montrant que des éléments se forment à partir de la membrane externe ; ici, formation directe d'une* lame de réticulum *qui, secondairement, bourgeonne des* vésicules granuleuses *(microscopie électronique).

A droite,
lamelles annelées *observées dans l'ovocyte d'ascidie. Elles prennent naissance au niveau de la membrane nucléaire ; leur lumière contient un matériel dense aux électrons et l'extérieur de la paroi est tapissé d'un très grand nombre de particules ribosomiques (microscopie électronique).*







F. Arborio Mella

▲ *Le cytologiste italien* **Golgi.**

▶ ***Mise en évidence de l'appareil de Golgi sur une coupe de canal excréteur génital d'embryon de poulet mâle. Une coloration histochimique par l'osmium permet de repérer les éléments golgiens qui apparaissent sous forme de réseaux très sombres dans les cellules qui revêtent le canal.***

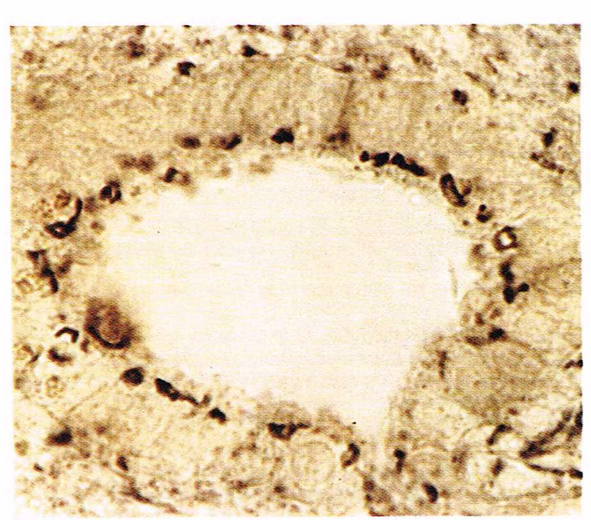
▼ ***A gauche, structure de l'appareil de Golgi (ascidie); on distingue nettement la pile de saccules minces, et la fenestration de l'un d'eux (en bas) à la face de maturation. A droite, trois aspects de l'appareil de Golgi dans une coupe de tube digestif d'ascidie; la forme dépend du plan de coupe (microscopies électroniques).***

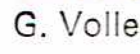
de protéines (poids sec). Or, une partie de ces protéines sont des enzymes (phosphatases et estérases par exemple) et certaines servent au métabolisme des stéroïdes. Cette composition permet de penser que les fonctions du réticulum sont assez variées.

L'appareil de Golgi

En 1898, le cytologiste italien Golgi décrivit dans des cellules nerveuses une zone cytoplasmique particulière où s'accumulent les sels d'argent. Proche du noyau, cette zone comporte des éléments filamenteux, l'ensemble constituant un système d'aspect subsphérique; cet appareil réticulaire interne, suivant l'expression de Golgi, fut très étudié par la suite (par Cajal et Cowdry par exemple); Chèvremont estime que, vers 1939, plus de 2 000 travaux avaient été consacrés à l'appareil de Golgi. Cependant, ce n'est que maintenant que l'on découvre certains aspects fort intéressants de ce système cavitaire absolument fondamental pour la vie de la cellule.

Sur cellules fixées (et bien fixées car les artefacts sont fréquents), la forme de l'appareil de Golgi est typique de chaque espèce cellulaire quand on effectue une imprégnation argentique des coupes. Dans l'ensemble, il s'agit d'un réseau de fins cordons et de canalicules dont il est difficile de dire s'ils sont isolés ou, au contraire, plus ou moins anastomosés. On observe que le « Golgi » est particulièrement développé dans certaines cellules, dont l'activité est évidemment frappante puisqu'il s'agit des cellules nerveuses et des cellules glandulaires. Selon Cowdry, l'appareil change de forme suivant l'état fonctionnel de la cellule, en conservant cependant des caractères particuliers au type de cellule étudié.



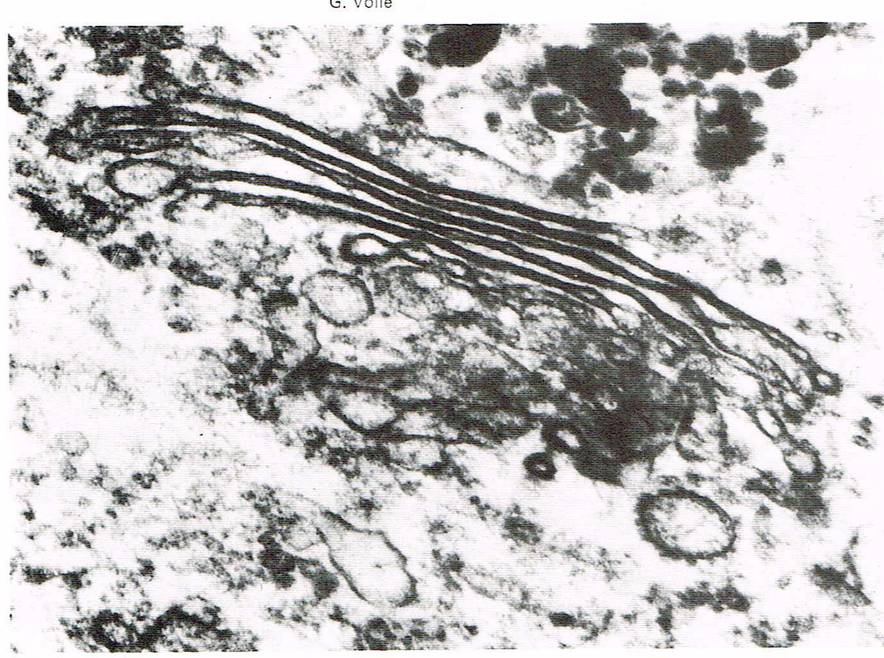


G. Volle

En 1956, Chèvremont posait encore la question de l'existence du système. Il insistait sur le fait que l'observation de cellules vivantes n'apportait aucun argument irréfutable. Il notait toutefois que le microscope à contraste de phase donnait quelques résultats encourageants, puisque la zone de Golgi, zone claire et généralement non granuleuse du cytoplasme, subissait des variations de volume et de structure quand on activait le métabolisme ou quand on introduisait des agents dénaturants dans la cellule (détergents). En fait, aucune structure détaillée n'est observable dans la cellule vivante avec l'aide du contraste de phase. Par contre, les colorations vitales donnent des résultats plus notables : divers auteurs ont pu montrer de cette manière qu'il existait au voisinage du noyau, dans la zone correspondant au Golgi, une accumulation de petites vacuoles (vacuome), dont le nombre et l'agencement dépendaient de l'état physiologique de la cellule (Ludford; Lasfargues et Di Fine, 1950; travaux de Parat et de Painlevé, complétés par le botaniste Guilliermond). On pouvait alors penser qu'il existait un rapport entre ce vacuome et l'appareil de Golgi, artefact mis en évidence dans les cellules fixées. Nous verrons que la réalité est en fait très complexe.

En 1954, Sjöstrand et Hanzon découvrirent, avec l'aide du microscope électronique, un système complexe fait de *cavités* limitées par de minces membranes et qui montraient des relations topographiques avec des *vacuoles de sécrétion;* ils estimaient qu'il s'agissait là de l'appareil de Golgi. L'amélioration du matériel électronique permit la confirmation de leurs travaux. En 1966, Mollenhauer et Morré décrivirent avec précision la structure du complexe golgien mis en évidence chez des végétaux.

On donne le nom de *dictyosome* au système de lamelles, ou *saccules,* qui constitue une partie de la zone de Golgi. La structure d'un dictyosome n'a que de lointains rapports avec celle de l'appareil observé après imprégnation argentique. Les lamelles sont disposées comme une pile de soucoupes. Elles peuvent être de forme régulière, ou bien comporter des inflexions plus ou moins nombreuses et plus ou moins marquées selon le type cellulaire. Néanmoins, dans presque tous les cas, on distingue une face convexe et une face concave. Autour de cette accumulation de saccules, on observe des *vésicules* de taille diverse; elles sont souvent abondantes et volumineuses du côté convexe de la pile des lamelles et, en général, nettement plus petites à la périphérie des lamelles ou du côté concave. On a pu constater récemment que les vésicules observées du côté convexe tendent à se grouper, à s'aligner et à se souder, formant ainsi une *nouvelle lamelle;* on avait cru, auparavant, que ces vésicules naissaient à partir de la lamelle la plus externe. Quant à la lamelle la plus interne, celle qui est à la face concave du dictyosome, elle peut être fenestrée. De petites vésicules naissent au bord latéral des saccules.



C. Bouchard

C. Bouchard

En 1968, Grove, Bracker et Morré ont constaté des détails d'un grand intérêt. La face concave de chaque saccule du dictyosome comporte une membrane dont l'épaisseur est toujours voisine de 75 Å, alors que celle qui limite la face convexe est sensiblement plus mince (25 à 40 Å). De plus, la membrane de 75 Å, dite *unitaire*, est plus dense aux électrons. Les caractères de ces membranes « épaisse » et « mince » doivent être rapprochés, respectivement, de ceux de la membrane cytoplasmique (plasmalemme) et du réticulum endoplasmique. Cette observation constitue un argument en faveur de l'hypothèse selon laquelle l'appareil de Golgi se formerait à partir de vésicules lisses détachées du réticulum endoplasmique. Ainsi, selon Northcote, on peut écrire : enveloppe nucléaire → réticulum endoplasmique → vésicules → appareil de Golgi ⇆ plasmalemme.

En décembre 1973, dans un travail consacré à l'étude des cellules sécrétrices de l'oviducte, Cl. Boisseau a très méticuleusement décrit la structure et l'évolution de l'appareil de Golgi. Il a parfaitement mis en évidence l'accumulation initiale de vésicules du réticulum endoplasmique, la formation des saccules lamellaires, leur maturation, qui va de pair avec une accumulation de matériel dense dans les cavités, puis la fragmentation et la vésiculisation de ces saccules mûrs. Nous reviendrons sur les caractères des vésicules et de leur contenu.

Récemment, Favard écrivait que la constitution chimique de l'appareil de Golgi est encore peu connue. En effet, il est bien difficile d'obtenir une fraction « Golgi » pure à partir de broyats cellulaires : une partie du réticulum endoplasmique migre avec les dictyosomes durant l'ultracentrifugation (Kuff et Dalton, 1959). On constate cependant la richesse du dictyosome en phospholipides; on y trouve également des protéines, parmi lesquelles diverses enzymes. Selon Keenan et Morré (1970), la composition du Golgi est intermédiaire entre celle du réticulum et celle du plasmalemme.

Les autres cavités cytoplasmiques

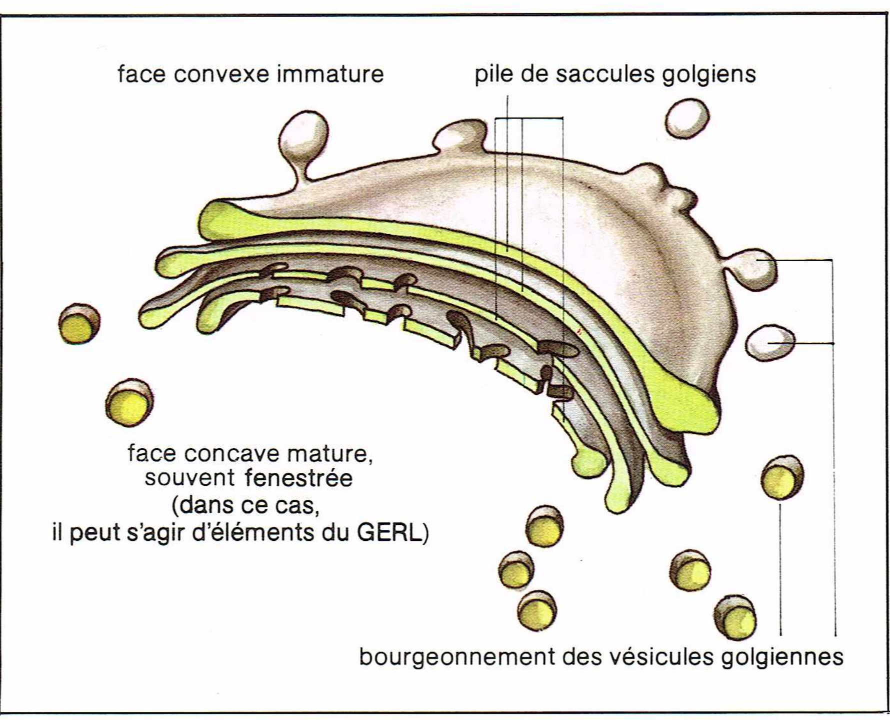
Le cas des mitochondries mis à part (nous le verrons plus loin), on trouve dans les cellules diverses *vacuoles*, qui sont souvent extrêmement développées chez les végétaux. Dans l'ovocyte des animaux, il y a toujours une certaine quantité de *vésicules chargées de matériel vitellin*. Beaucoup de cellules comportent aussi des *lysosomes* chargés d'enzymes lytiques et des *vacuoles digestives*, ou de *phagocytose*. La nature et l'origine de ces constituants cytoplasmiques seront décrites quand nous étudierons les fonctions du réticulum et du Golgi.

Les filaments intracytoplasmiques

Le cytoplasme de diverses cellules contient des éléments fibrillaires groupés sous le nom de *filaments;* ceux-ci sont, en fait, de nature assez variée puisqu'ils peuvent être à peine perceptibles au microscope électronique ou bien constituer des structures assez épaisses et contractiles, très caractéristiques des cellules musculaires.

En microscopie optique, on connaît depuis longtemps l'existence de *tonofibrilles* qui forment des faisceaux très apparents, dans les cellules jeunes de l'épiderme par exemple. On pensait autrefois que ces filaments passaient d'une cellule à l'autre; l'observation de coupes d'épiderme laissait supposer l'existence de nombreux ponts intercellulaires. Le microscope électronique a montré qu'il n'en est rien : il n'y a pas de continuité d'une cellule à une autre, mais seulement contiguïté. Ces *tono-filaments* ont un diamètre de 50 Å. Ils sont constitués par une protéine sulfhydrilée qui, dans l'épiderme, lorsque les cellules vieillissent, devient la kératine. On distingue en outre d'autres types de filaments, qui existent dans bien d'autres cellules, normales ou tumorales. Des microfilaments d'un diamètre de 70 Å se trouvent à peu de distance de la membrane cytoplasmique des cellules à pseudopodes.

On sait depuis longtemps que les cellules musculaires contiennent un grand nombre de filaments dits contractiles, qui s'associent généralement d'une manière beaucoup plus complexe que les filaments dont nous avons déjà évoqué l'existence; on les appelle les *myofilaments*. Nous étudierons d'abord la disposition et la nature des myofilaments de muscles striés, c'est-à-dire de muscles qui permettent les mouvements squelettiques, les mouvements du bras par exemple. Chaque cellule musculaire,



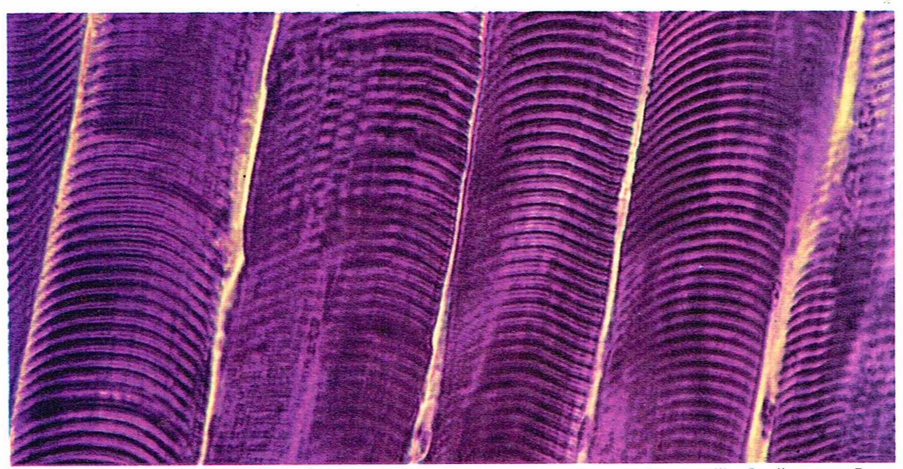
R. Colin

▲ *Représentation schématique d'un appareil de Golgi, ou* **dictyosome**, *coupé suivant un diamètre des saccules. Autour de cette accumulation de saccules, on observe des* **vésicules**, *souvent abondantes et volumineuses du côté convexe de la pile, plus petites à la périphérie ou du côté concave.*

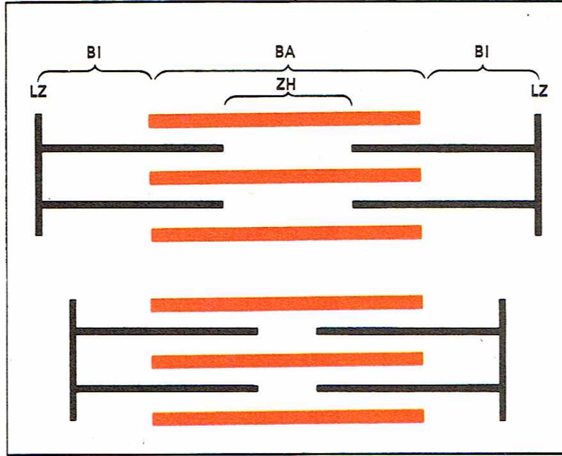
▼ **Filaments intracytoplasmiques** *dans les cellules d'un canalicule du pancréas exocrine (protée). Les filaments sont disposés en faisceaux sensiblement parallèles à la limite du canalicule (microscopie électronique).*



A. Beaumont



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato



I.G.D.A.

▲ *A gauche, section longitudinale d'un muscle strié. A droite, représentation schématique d'une section transversale de* myofibrille *dans laquelle est mis en évidence le double réseau de filaments :* BI, *bande I;* BA, *bande A;* LZ, *ligne ou strie Z;* ZH, *zone H, moins dense et située au centre de la bande A; en noir, les filaments* d'actine; *en rouge, les filaments de* myosine *(d'après Hanson et Huxley).*

ou « fibre » musculaire, contient plusieurs noyaux (c'est donc un syncytium) et de nombreuses *fibrilles,* ou *myofibrilles,* très faciles à voir en microscopie optique. Chacune des myofibrilles contenues dans le hyaloplasme est elle-même constituée de plusieurs éléments. A grossissement moyen (500), on y découvre des bandes transversales claires et sombres, disposées de manière très régulière. Chaque bande claire comporte en son milieu une ligne sombre transversale, parfaitement visible avec un objectif à immersion : on l'appelle *strie Z.* On nomme *sarcomère* une portion de myofibrille comprise entre deux stries Z. Dans chaque sarcomère, on trouve une bande claire, puis une bande sombre assez large et, de nouveau, une bande claire. L'observation en lumière polarisée permet de constater que les myofibrilles sont biréfringentes, donc constituées par un matériel anisotrope, lui-même fibreux. Cependant, toute la myofibrille n'est pas nettement anisotrope : on y distingue, en effet, une succession de bandes transversales sombres (*isotropes*) et claires (*anisotropes*). Or, les bandes anisotropes biréfringentes correspondent aux bandes sombres observées en lumière normale; on peut donc penser que ces bandes sombres, qui apparaissent très brillantes en lumière polarisée, sont constituées par un matériel densément fibrillaire; ces bandes sont désignées par la lettre A; par contre, on utilise la lettre I pour les autres bandes (isotropes). Un sarcomère mesure entre 1 et 3 μ chez les Mammifères, mais il peut atteindre 17 μ chez certains Insectes. Dans tous les cas, les bandes transversales des myofibrilles sont situées au même niveau pour l'ensemble d'une fibre; autrement dit, il semble que les stries Z soient continues d'une fibrille à une autre.

Toutefois, nous n'avons pas là tous les détails de structure des myofibrilles. Des études ont été faites au microscope à contraste de phase et en utilisant la technique de diffraction des rayons X (Astbury). Les résultats ont montré qu'il existait dans les fibrilles des structures plus ténues, dont la périodicité pouvait être déterminée. L'étude de coupes ultra-fines, effectuées pour le microscope électronique, a permis de mieux comprendre la constitution des myofibrilles (Hanson et Huxley, 1957). Elles comportent deux types de filaments disposés parallèlement et suivant l'axe de la myofibrille : des *filaments fins* (100 Å de diamètre) et des *filaments épais* (50 Å). La répartition de ces filaments dans un sarcomère est la suivante : l'anisotropie de la bande A correspond à une zone de cytoplasme où les filaments sont très serrés et très nombreux; par contre, la bande isotrope contient seulement des filaments fins dont la densité est insuffisante pour donner une biréfringence nettement décelable en lumière polarisée. Observées au microscope électronique, des coupes transversales faites au niveau des bandes A et I montrent que la disposition des filaments est très régulière, ce qui confirme les résultats obtenus par l'étude des diagrammes de diffraction des rayons X : dans la bande A, on constate un arrangement hexagonal des myofilaments.

Des myofibrilles, on extrait des protéines, essentiellement l'*actine* et la *myosine,* ou protéines contractiles. Certaines solutions salines permettent l'extraction de la myosine seule; dans ce cas, les filaments épais disparaissent. A d'autres concentrations, ces solutions permettent d'éliminer l'actine de la myofibrille; alors, parallèlement, les filaments fins ne sont plus visibles.

Des techniques de « coloration » particulières permettent d'observer de façon plus approfondie la structure des filaments (coloration négative). Les filaments fins sont constitués par une double hélice d'actine. Les filaments épais sont faits d'environ deux cents molécules de myosine, disposées en chevrons. On a tenté de reconstituer *in vitro* des filaments de « protéine contractile »; en 1962, Huxley est parvenu à précipiter la myosine en solution, et il est apparu que les molécules se disposent comme dans un filament épais observé *in situ.* Ces myofilaments sont à rapprocher de ceux qui se trouvent dans les fibres du *syncytium cardiaque.*

Par contre, on ne voit pas de bandes transversales au niveau des fibrilles des muscles des autres viscères; on parle donc de *fibres musculaires « lisses »,* terme, à vrai dire, assez peu significatif. Ces fibres sont nettement biréfringentes en lumière polarisée.

Depuis quelques années, on a constaté que des filaments protéiques du *type actine* existent dans le cytoplasme de beaucoup de cellules. Dans le cas des amibes et des Myxomycètes, des filaments cytoplasmiques sont groupés en faisceaux; ces filaments, de 70 Å de diamètre, ont été découverts en 1964 par Wolfarth-Bottermann. On tend à rapprocher les mouvements amœboïdes et les mouvements de cyclose très facilement observables chez les végétaux; mais là, nous avons affaire à des structures ténues, plus difficiles à étudier que dans le cas du muscle.

Les tubules cytoplasmiques, ou microtubules, et les centrioles

Les *microtubules* cytoplasmiques, que l'on ne peut pas étudier au microscope à lumière, sont devenus un important sujet de préoccupation pour les spécialistes du microscope électronique; en effet, leurs rôles sont encore mal connus. Il s'agit d'éléments longs et fins, de 250 Å de diamètre, qui paraissent lisses et dont seule la partie corticale est dense aux électrons; cette écorce est faite d'éléments fibrillaires accolés, dont le diamètre serait de 40 Å (Porter et coll., 1965).

On trouve ces microtubules dans de très nombreux types cellulaires, végétaux ou animaux. Chez les végétaux, les microtubules sont disposés parallèlement à la membrane cytoplasmique et à son voisinage; de plus, ils sont abondants dans le hyaloplasme, et paraissent orientés en fonction des mouvements de cyclose. Chez les animaux, ils sont particulièrement nombreux dans les cellules nerveuses et dans les spermatozoïdes; ils constituent des éléments essentiels des cils et des flagelles; enfin, ils jouent un rôle fondamental dans le déroulement de la division cellulaire.

Les *protofibrilles,* de 35-40 Å de diamètre, qui constituent chaque microtubule, seraient de même nature chimique dans tous les cas. La protéine dont ils sont faits, ou *tubuline,* a un coefficient de sédimentation de 6 S (Borisy et Taylor, 1967) et un poids moléculaire voisin de 52 000. Cependant, Raff et Kaumeyer estiment que les microtubules contiennent deux protéines, comportant l'une et l'autre une grande proportion de diacides aminés et d'un acide à fonction alcool primaire, la sérine (1973).



C. Bouchard

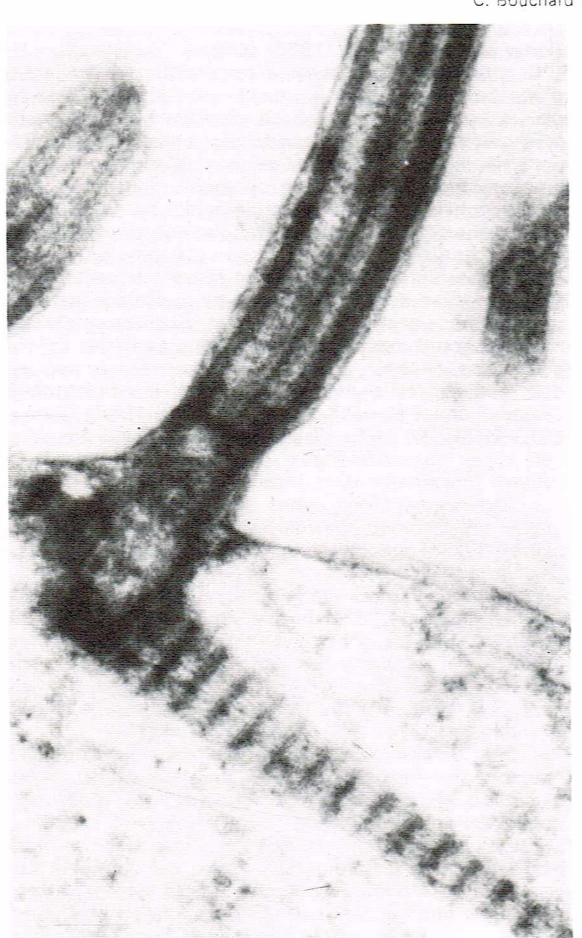
◀ ***Localisation du* centriole *dans une cellule animale (ascidie) : 1, les deux éléments du centriole disposés à 90° ; 2, noyau ; 3, cytoplasme chargé de vésicules (microscopie électronique).***

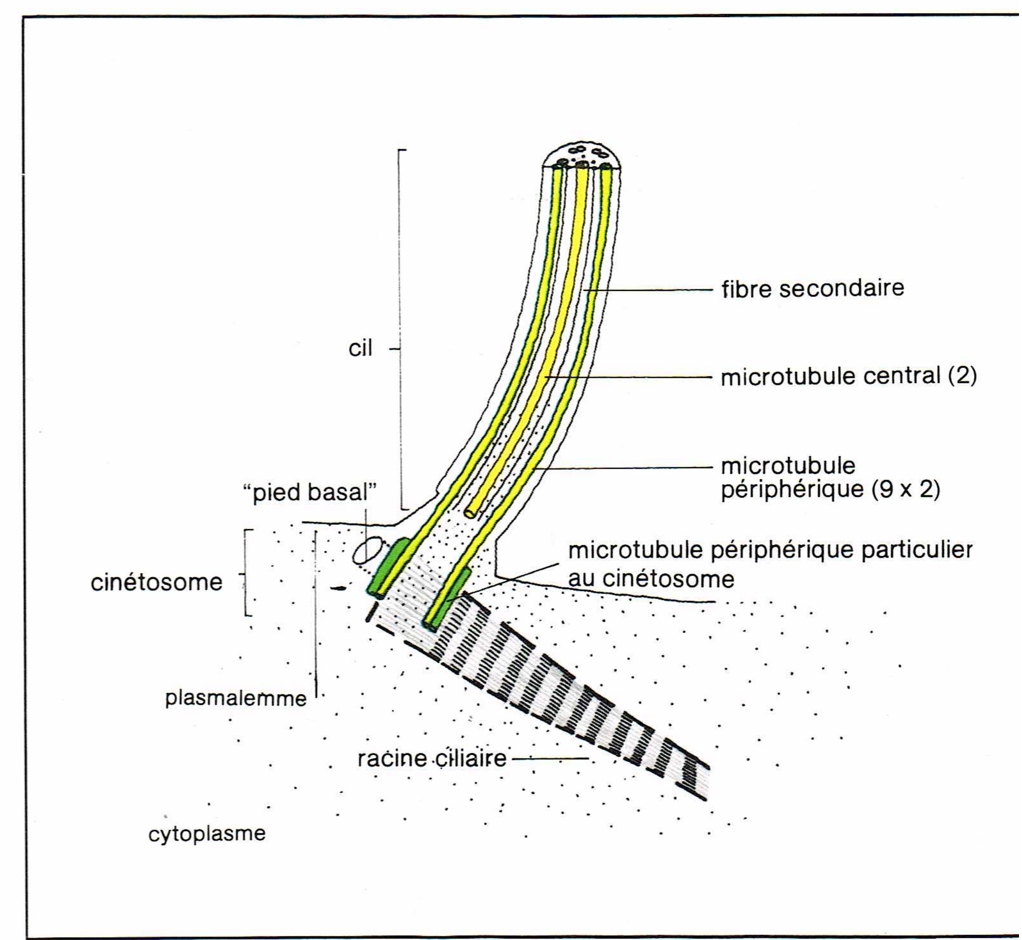
En utilisant une technique de marquage, on a montré que les méthodes d'extraction de la tubuline ne sont pas parfaites (Burnside et coll., 1973). La caractérisation des constituants des microtubules reste donc un problème.

La disposition des microtubules contenus dans les cils ou dans les flagelles, dont le diamètre est de 0,2 μ, est la suivante. Sur une coupe transversale, on trouve 9 groupes de 2 tubules, et, au milieu de cette couronne de 18 tubules, on voit aussi 2 microtubules isolés. Entre les tubules centraux et la couronne périphérique, on trouve, enfin, une couronne d'éléments annexes, les fibres secondaires (de 50 Å de diamètre). Les tubules périphériques comportent de très petites expansions latérales, les « bras ». Sur coupe longitudinale du cil, on voit que les microtubules, qui s'étendent dans tout le cil (ou le flagelle), se prolongent dans le hyaloplasme cortical jusqu'à un *cinétosome,* corpuscule également fait de microtubules (9 $\times$ 3 microtubules) et appelé aussi *corpuscule basal*. Notons que, dans bien des cas, le cinétosome est en rapport avec des *racines ciliaires* faites de fibres protéiques dont la structure rappelle celle du collagène : chacune des racines, en contact avec un cinétosome, se joint aux autres pour former un faisceau parfois très volumineux.

Enfin, il faut préciser que la structure des cinétosomes est la même que celle des *centrioles,* que l'on trouve dans toutes les cellules vivantes, Bactéries et végétaux supérieurs mis à part. Chaque cellule possède deux centrioles disposés en croix (diplosome), jouant un rôle important dans sa division. Curieusement, la composition chimique d'un centriole est très complexe : on y trouve des protéines (50 %) ainsi que des glucides et des lipides (11 %), mais aussi 3 % d'ADN et 2 % d'ARN. Ces acides nucléiques sont colorables; Fautrez estime que leur importance est essentielle pour le déclenchement de la division cellulaire (résultats obtenus, en 1963, avec l'œuf d'un Crustacé primitif bien connu des aquariophiles, *Artemia salina*). Par ailleurs, parmi les protéines, il y a une très grande abondance d'enzymes dont dépend le catabolisme des glucides (Seamann, 1960). On voit ainsi que le centriole est un corpuscule dont l'importance n'est pas négligeable.

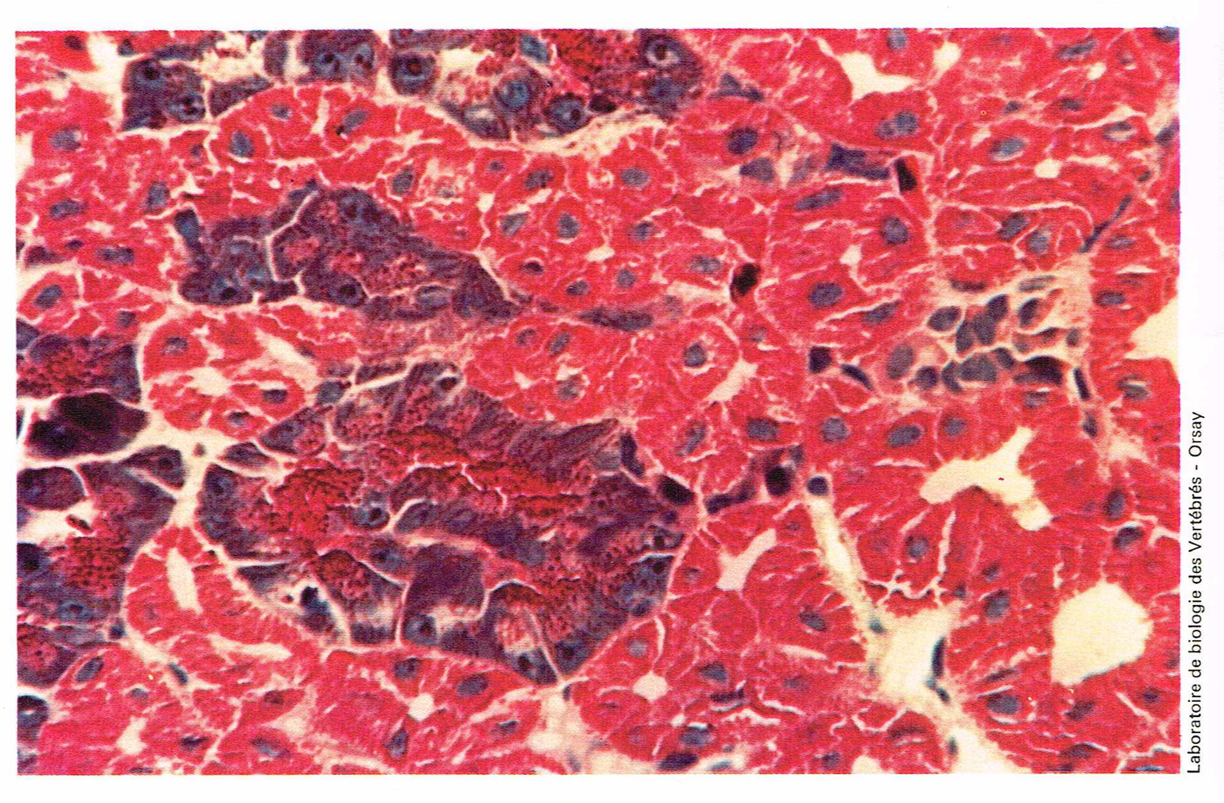
▼ ***A gauche, coupe longitudinale d'un* cil, *on distingue nettement les microtubules axiaux et les groupes de microtubules périphériques. A la base, le* cinétosome *relié à la racine ciliaire (microscopie électronique) [cellule de l'oviducte d'ascidie]. A droite, structure schématique d'un cil et de son* cinétosome, *corpuscule également fait de microtubules.***


C. Bouchard



R. Colin

▶ *Mise en évidence des* mitochondries *dans le pancréas d'un* Amphibien (Alytes) *; colorées par la fuchsine (méthode d'Altman), elles apparaissent en rouge dans le cytoplasme. Un massif de cellules sécrétrices exocrines, coloré en gris-vert, montre à la fois des* mitochondries *et des grains de sécrétion qui ont également « pris » la fuchsine (accumulation à l'un des pôles de chaque cellule).*


Laboratoire de biologie des Vertébrés - Orsay

▶ *Page ci-contre, en bas à gauche, coupe mince d'un culot de* mitochondries *isolées* (Candida utilis) *montrant de nombreux ribosomes mitochondriaux le long des crêtes et de la membrane interne. Plusieurs de ces ribosomes sont alignés, formant des* polysomes *caractéristiques. A droite, mise en évidence de l'*ADN *extrait d'une mitochondrie de* Tetrahymena *; cet aspect n'est qu'un reflet très imprécis de la configuration de cet ADN ; en fait, la molécule serait constituée de deux brins spiralés (microscopies électroniques).*

Les mitochondries, organites semi-autonomes de la cellule

Les *mitochondries* sont des organites cytoplasmiques dont la découverte remonte à la fin du siècle dernier. C'est Altmann qui, en 1890, les mit en évidence en utilisant des fixateurs et des colorants particuliers. Mais la plupart des biologistes ne crurent pas tellement à la réalité de ces corpuscules et virent en eux des artefacts, et cela malgré les observations effectuées par Benda en 1898. Altmann et Benda décrivaient ainsi des grains et des bâtonnets, dont l'ensemble constituait le chondriome. Sans se laisser paralyser par le spectre des artefacts, bien des chercheurs ont ensuite tenté de connaître la nature et les fonctions des mitochondries (on parlait à l'époque de chondriosomes) ; Meves, Dubreuil, Regaud et Cowdry furent parmi les pionniers. Cependant, il fallut attendre les techniques du microscope électronique et de la biochimie moderne pour commencer à connaître ces organites.

Toutes les cellules des Eucaryotes contiennent des mitochondries. La disposition et la densité de celles-ci varient suivant le type de cellule. Si leur aspect est très variable, on peut, dans un type donné de cellule, leur trouver des caractères fixes. Cependant, il apparaît que ces organites sont à la fois mobiles dans le cytoplasme et très déformables. La technique de microcinématographie a permis d'analyser leur comportement *in vitro :* en filmant une cellule « image par image », avec un intervalle de 5 à 20 secondes entre chaque photographie, il est possible de constituer un film qui accélère les mouvements de la cellule et de ses organites. En 1928, Canti obtint des résultats en filmant seulement en fond noir. Les images données par le contraste de phase sont toutefois beaucoup plus suggestives : on vit ainsi que les chondriosomes, organites bien réels, sont extrêmement déformables ; Fell et Hugues, en 1949, puis Frédéric et Chèvremont, ainsi que Gey nous ont montré que ces organites ont une activité très intense : ils se tordent, se déplacent continuellement, se raccourcissent ou s'allongent, et peuvent même se fragmenter ou se souder. En 1956, Chèvremont notait que cette activité n'était pas due à une véritable contractilité des organites, mais plutôt « à des processus où interviendraient d'intenses changements dans les conditions de surface ».

En tout état de cause, l'introduction dans le milieu de culture de divers agents modifie le comportement des chondriosomes ; en particulier, les détergents provoquent leur fragmentation ; par ailleurs, la réduction du taux d'oxygène entraîne des transformations qui peuvent être irréversibles.

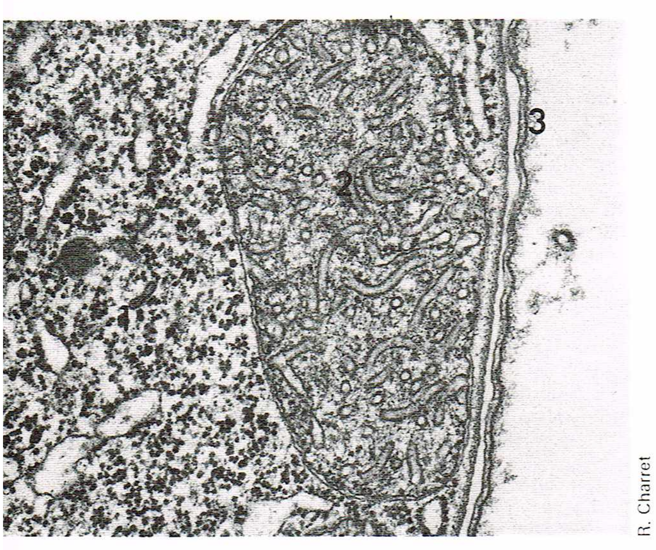
La structure des mitochondries est toujours caractéristique au microscope électronique. Elle fut analysée par Porter, Claude et Fullam (1945), Oberling, Bernhard et coll. (1952), ainsi que Palade et Sjöstrand ; ces derniers, grâce à des coupes ultrafines (épaisseur inférieure à 0,1 μ), décrivirent l'essentiel de l'organisation d'une mitochondrie ; les détails n'ont été bien observés que dans les années 60 (André, 1960 ; Fauré-Frémiet, Favard et Carasso, 1962 ; Hernandez-Moran, 1964 ; Porter et Badenhausen, 1965 ; etc.).

Chaque organite comporte *deux membranes* limitantes, d'une épaisseur de 75 Å (membrane unitaire), séparées par un espace très marqué. La membrane interne envoie à l'intérieur de la mitochondrie des replis, des invaginations, les *crêtes,* ou *cristae,* qui sont plongées dans une *matrice mitochondriale* plus ou moins dense aux électrons (considérée comme semi-rigide par Volfin). On décrit dans cette matrice des granulations, dont la densité dépend du type cellulaire et de son état physiologique.

La disposition des crêtes varie suivant la cellule : par exemple, elles sont nombreuses et feuilletées dans les cellules musculaires, et longues et disposées parallèlement au grand axe de la mitochondrie dans des cellules germinales (André). Elles peuvent constituer, non pas des feuillets, mais des tubules chez les Protozoaires (Fauré-Frémiet et coll., 1962 ; Schuster, 1965 ; Charret, 1970-1973). En 1973, Cassier et Fain-Maurel ont décrit des types mitochondriaux plus complexes dans les cellules intestinales d'un Insecte *(Petrobius) :* dans ce cas, l'agencement des crêtes est extrêmement régulier, proprement géométrique (crêtes prismatiques, lamellaires, planes ou zigzagantes et perforées, crêtes lamellaires à piliers).

On trouve d'autres éléments dans les mitochondries. Des particules de 85 Å de diamètre tapissent la surface externe des crêtes, s'y trouvant accrochées par un court pédoncule (ces *particules élémentaires* n'ont peut-être pas cette allure dans la cellule vivante). Enfin, il existe, dans la matrice, un autre type de particules, de 120 Å de diamètre.

Il est évident, *a priori,* que la constitution chimique de la mitochondrie ne peut pas être simple. On l'étudie sur des culots de centrifugation. Claude (1940), puis Hogeboom, Schneider et Palade (1948) furent les premiers à utiliser cette technique. Leurs études furent approfondies par Kennedy et Lehninger ainsi que par André et coll. La pureté des « fractions mitochondries » est un problème technique très délicat. Les culots purifiés doivent être traités par des tensio-actifs ou des ultra-sons (sonication)



R. Charret

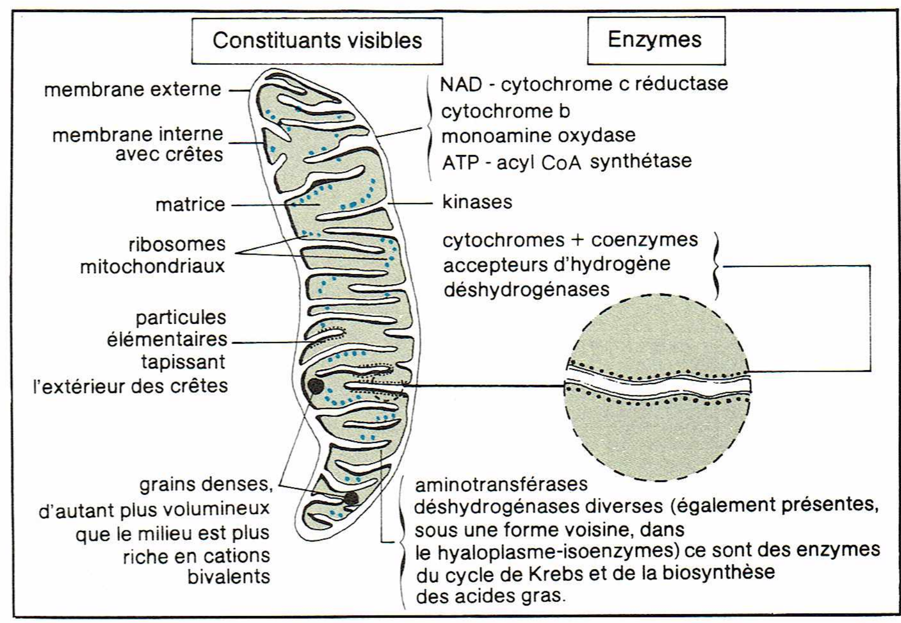


A. Beaumont

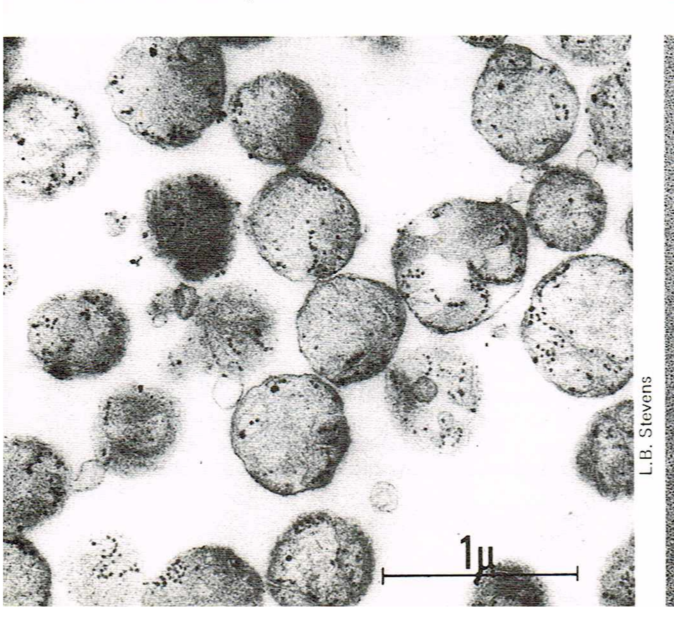
pour que les mitochondries éclatent; une nouvelle ultra-centrifugation donne une « fraction membranes » et une « fraction matrice »; en isolant la fraction membrane et en la traitant aux ultra-sons, on provoque la libération des particules élémentaires; on effectue alors une troisième centrifugation. L'analyse globale des constituants de la mitochondrie montre que cet organite contient relativement peu d'eau (66 %) mais une proportion importante de *protéines* et de *lipides;* cela se comprend aisément, puisque les systèmes membranaires sont extrêmement développés; d'autre part, parmi les protéines, on trouve de *très nombreuses enzymes.* Une « carte » de répartition de ces dernières permet de voir qu'elles ont une localisation généralement très précise, matricielle ou membranaire. Les *cytochromes* sont abondants et constituent l'essentiel des particules élémentaires. Outre ces composés, dont la fonction sera discutée un peu plus loin, on trouve aussi dans les mitochondries des *nucléotides,* en particulier de l'ADP et de l'ATP, ainsi que des *coenzymes,* FAD et NAD, dont nous avons déjà évoqué le rôle. Enfin, on a récemment constaté que les mitochondries contiennent des *acides nucléiques;* en 1964, Luck y a mis en évidence un ADN, en utilisant un Champignon très apprécié des généticiens, *Neurospora;* cet ADN est présent sous forme d'une molécule circulaire de 5 μ de longueur, ce qui rappelle le chromosome bactérien. En 1966, Nass a pu obtenir des images semblables chez les animaux. André et coll., en particulier R. Charret, sont parvenus à mettre en évidence des filaments d'ADN expulsés des mitochondries par choc osmotique et absorbés sur un film de carbone qui tient lieu de porte-objet pour l'observation électronique. Dans le cas du Protozoaire Cilié *(Tetrahymena),* la molécule est très longue (supérieure à 40 μ) et ne paraît pas être circulaire. Par ailleurs, on a découvert l'existence de *ribosomes* souvent associés en *polysomes;* ces particules, extrêmement riches en ARN, sont très nettement observables chez *Tetrahymena.*

▲ *A gauche,* **mitochondrie à crêtes tubulaires** *(2) d'un Protozoaire* **(Tetrahymena)** *dont on voit nettement la membrane (3); le cytoplasme (1) est chargé de ribosomes.*
A droite, **mitochondries** *mises en évidence dans une cellule d'Amphibien : la double membrane est bien visible; les crêtes, ici transversales, sont des replis de la membrane interne; le stroma est ici dense et granuleux (microscopies électroniques).*

▼ *Ci-dessous, schéma de localisation des enzymes par rapport aux constituants de la mitochondrie; les particules élémentaires sont vraisemblablement des artefacts, mais elles permettent de voir que nombre d'enzymes sont localisées au contact des crêtes.*



R. Colin



L.B. Stevens



R. Charret

S. Blaise

▲ **Chloroplastes** ***mis en évidence dans les cellules d'un prothalle de Fougère cultivé en milieu liquide.***

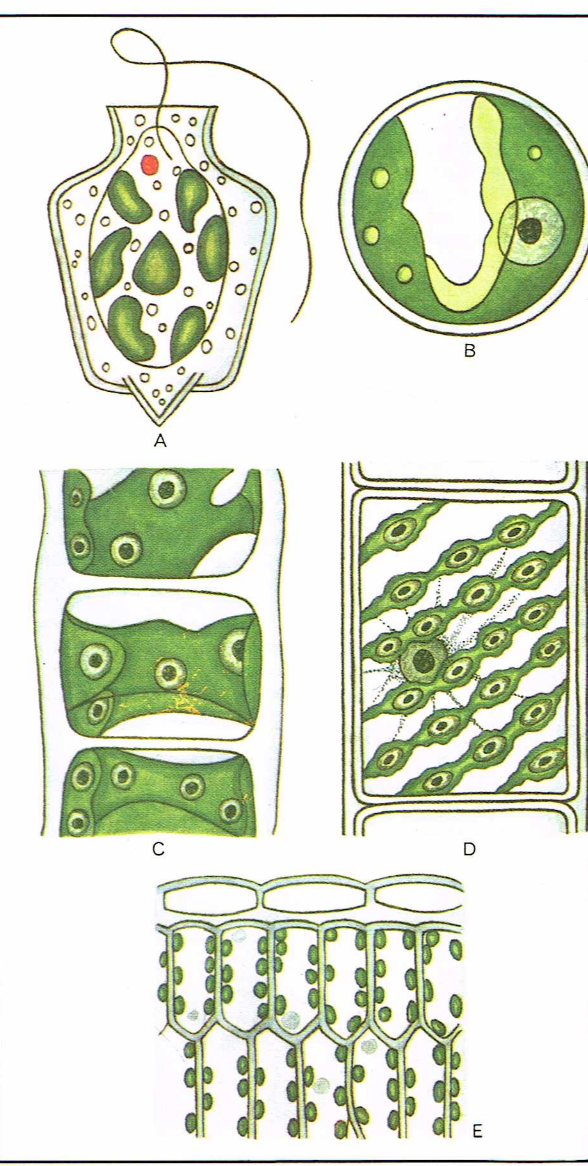
Les plastes des végétaux

Il existe différents types de *plastes* chez les végétaux. Les plus importants sont les *chloroplastes,* corpuscules de structure complexe contenant un pigment vert magnésien à noyau tétrapyrrolique.

Chloroplastes et chromoplastes

Chacun sait que le vert des plantes tache les vêtements et part difficilement à l'eau. Cela est dû à un pigment que l'on peut extraire en broyant des feuilles d'un végétal quelconque dans un mortier, avec du sable fin et de l'alcool fort ; la belle liqueur verte obtenue est une solution de *chlorophylle* brute. En trempant une feuille de papier-filtre dans cette solution, on obtient, à la limite d'ascension du liquide, deux bandes colorées superposées : une bande verte, correspondant à la fixation de la chlorophylle sur les fibres de papier, et une bande jaune, correspondant à deux autres pigments, la xanthophylle et le carotène ; ces derniers colorent, seuls, les plantes étiolées, certaines racines comme la carotte, des fruits, des fleurs ou des graines ; leur teinte est normalement masquée par le vert de la chlorophylle. Chez de nombreuses Algues, un pigment proche de la xanthophylle et du carotène s'ajoute à la chlorophylle brute et impose sa couleur : il s'agit, chez les Algues brunes, de la fucoxanthine, chez les Algues rouges, de la phycoérythrine, et chez les Algues bleues, de la phycocyanine. La poussière verte qui recouvre l'écorce des arbres exposés à des vents chargés d'humidité, est constituée par une multitude d'Algues unicellulaires, transparentes *(Pleurococcus viridis),* qui contiennent une petite cloche, ou cupule, verte ; cette cupule est un *chloroplaste*. Les Algues vertes ont, en général, un nombre faible et défini (de 1 à 4) de chloroplastes, encore appelés *chromatophores ;* ceux-ci ont une forme différente suivant les espèces, les genres, les familles : lames, lentilles, hélices, anneaux, rubans, cupules. Chez les végétaux supérieurs, chaque cellule en contient un grand nombre sous forme de pastilles de 4 à 10 µ de long sur 1 à 4 µ d'épaisseur, disséminés dans le cytoplasme, où ils sont entraînés par des mouvements de cyclose (mouvements lents du cytoplasme, facilement observables chez certaines plantes au microscope, l'élodée du Canada par exemple).

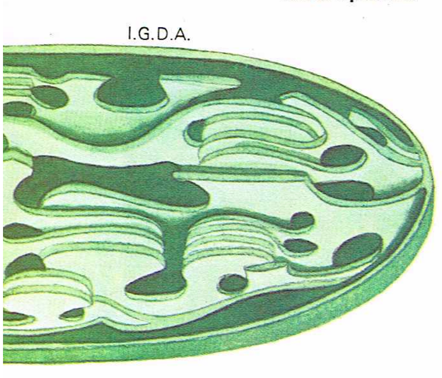
Chaque chloroplaste, quelle que soit sa forme, est comparable à un petit laboratoire, parfaitement équipé en produits chimiques et extrêmement complexe, tant par son fonctionnement, qui en fait le *facteur essentiel du maintien de la vie sur terre,* que par sa structure. Pour résumer cette complexité, on peut dire tout simplement qu'un chloroplaste est construit de façon à présenter, pour un volume donné, le maximum de surfaces fonctionnelles, c'est-à-dire de membranes.



I.G.D.A.

▶ ***Les*** **chloroplastes** ***ont une forme différente suivant les genres, les espèces, les familles de végétaux : A,*** **Stombomonas vermonti** ***; B,*** **Chlorella vulgaris** ***; C,*** **Ulothrix zonata** ***; D,*** **Spirogyra crassa** ***; E, chez les végétaux supérieurs, les chloroplastes sont sous forme de pastilles disséminées dans le cytoplasme.***

I.G.D.A.



▼ ***Reconstitution schématique, d'après Bogen, d'une partie d'un*** **chloroplaste.**

Le chloroplaste des végétaux supérieurs est une sorte de disque limité par une double membrane lipoprotéique et rempli d'une substance fondamentale, ou stroma, dans lequel la membrane lipoprotéique interne émet des replis aplatis (crêtes) ou tubulaires (villosités). En outre, dans le stroma se trouvent des saccules, poches aplaties comparables à des bouillottes en caoutchouc, qui, par endroits, s'associent entre eux ainsi qu'avec les crêtes de la membrane interne; il se forme alors des piles de saccules circulaires (ou disques) qui constituent les *granums*. C'est au niveau de toutes ces membranes internes que serait localisée la chlorophylle; comme l'écrit A. Nougarède : « Elle n'y est pas à l'état colloïdal mais adsorbée sur un matériel protéique en un film monomoléculaire. » La question de savoir comment, au niveau des lamelles, se répartissent les différentes molécules : lipides, protéines, pigments (compte tenu des données fournies par les différentes méthodes d'exploration, tels la microscopie électronique, le cryodécapage), n'est pas encore résolue.

Si les chloroplastes des Algues, ou chromatophores, montrent une structure lamellaire sans différenciation en granums, ils présentent par contre souvent des granulations tout à fait particulières, appelées *pyrénoïdes*, et autour desquelles sont élaborés des grains d'amidon; il s'agit de zones très finement granuleuses et un peu plus denses que le stroma du plaste.

Le stroma renferme des gouttelettes lipidiques et des grains d'amidon provenant de l'activité photosynthétique (synthèse de substances grâce à l'énergie solaire).

Dans ce microlaboratoire parfaitement conçu que représente le chloroplaste existe tout un équipement en substances chimiques complexes, équipement essentiellement nucléique (ARN et ADN) et enzymatique. Chez les chloroplastes *jeunes*, les enzymes sont abondantes : déshydrogénases, amylases, phosphorylases, etc.; la chlorophylle et les pigments caroténoïdes sont évidemment essentiels.

Le rôle physiologique des chloroplastes peut se résumer en une équation globale simple :

$$6CO_2 + 6H_2O \xrightarrow{lumière} C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

Dans le phénomène que résume cette réaction, la lumière extérieure (en général, la lumière solaire) est la source d'énergie. La chlorophylle se contente de capter l'énergie solaire, et ce sont les enzymes énumérées plus haut qui permettent les réactions chimiques complexes conduisant à la synthèse des substances organiques. Les quanta de lumière et les molécules de CO_2 sont les seuls composants empruntés directement au milieu extérieur. Le CO_2 est celui que rejettent les êtres vivants au cours de la respiration. L'eau, la chlorophylle et les enzymes sont fournies par la cellule. Un phénomène apparemment secondaire dans cette série de réactions, mais qui revêt une importance primordiale pour les êtres vivants, est la libération d'oxygène qui repart dans l'air extérieur et sera absorbé par tout ce qui respire, puis donnera en échange du gaz carbonique, etc.

Autres plastes

Il semble exister plusieurs types de plastes, revêtant des aspects différents en fonction des substances qu'ils élaborent; il a été question jusqu'ici surtout des deux premiers types : les *plastes chlorophylliens*, ou chroroplastes des Algues et organes aériens (feuilles et tiges) des végétaux supérieurs qui élaborent de la chlorophylle et de l'amidon, et les *chromoplastes* des fruits, des fleurs et de certains organes souterrains, qui élaborent des pigments caroténoïdes. Mais on trouve aussi, surtout dans les organes souterrains (racines, rhizomes, tubercules, etc.), des amyloplastes qui élaborent uniquement de l'amidon. En fait, il n'y a qu'une seule catégorie de plastes, les différents types pouvant se transformer les uns dans les autres et tous dérivant des proplastes méristématiques de structure voisine de celle des chondriosomes : ainsi, chez une pomme de terre exposée partiellement à la lumière pendant sa croissance, les amyloplastes vont se transformer en chloroplastes; une tomate verte rougira, en mûrissant, par transformation des chloroplastes verts en chromoplastes orange. Ceci s'observe chez beaucoup de fruits à maturation et chez les feuilles en automne.

Dans les *amyloplastes*, l'amidon se dépose en couches concentriques à partir d'un point originel, le hile, couche correspondant au dépôt d'amidon en 24 heures. Suivant les cas, l'amyloplaste peut contenir de 1 à 5 grains d'amidon. La forme et les dimensions des grains sont variables, mais assez constantes pour une espèce donnée.

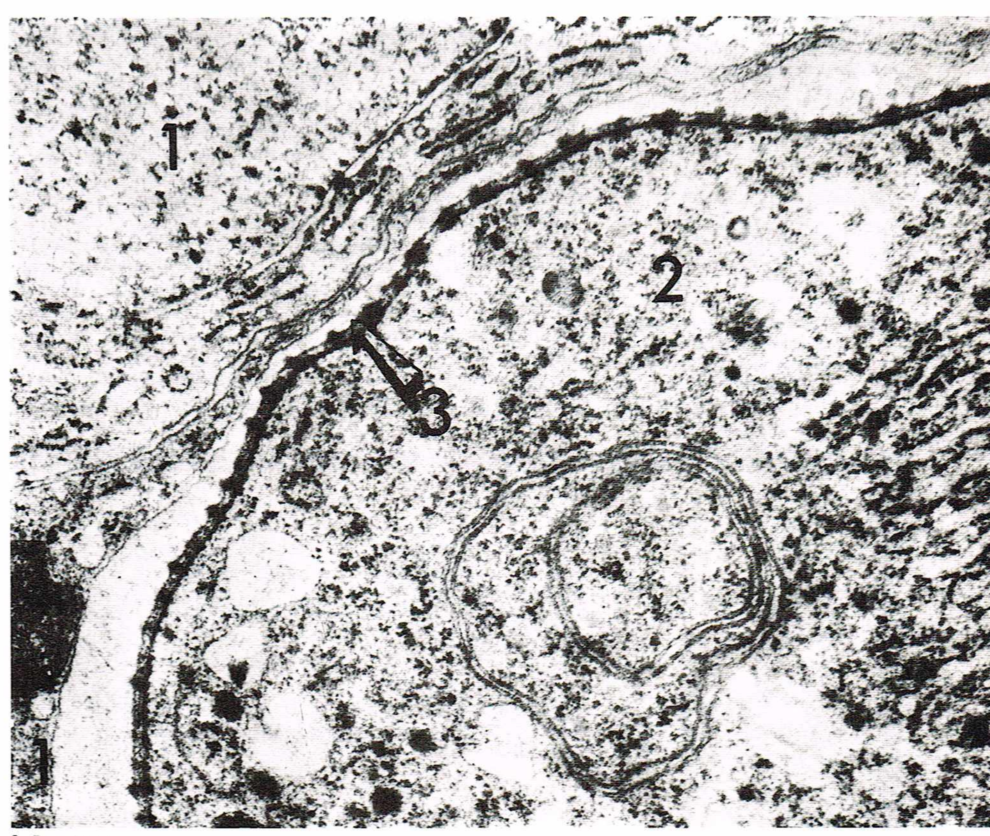
Dans les chromoplastes, le pigment caroténoïde peut être dissous dans les globules lipidiques; c'est le cas chez de nombreuses fleurs, dans les pétales devenus jaunes. Il peut aussi être porté par des sortes de feuillets, ou tubes, aux parois pluristratifiées de nature lipidoprotéique (longtemps pris, au microscope optique, pour des inclusions cristallines). On peut en observer dans les chromoplastes de la racine de carotte.

La membrane cytoplasmique

— *Structure.*

En microscopie optique, on distingue difficilement la membrane d'une cellule animale ou végétale. Chez les végétaux, la limite cellulaire est cependant beaucoup plus facile à repérer car il existe, autour des cellules, une enveloppe cellulosique parfaitement observable, constituant un « squelette » extracellulaire.

La membrane cytoplasmique proprement dite est toujours extrêmement mince (75 Å), et seule l'observation au microscope électronique permet d'en analyser les éléments. C'est un ensemble très structuré, qui comporte *trois couches* bien distinctes : une couche externe dense aux électrons, une couche intermédiaire claire et une couche interne dense. Parfois, la couche externe est doublée par une autre couche, encore plus externe, mais, fondamentalement, la structure à trois couches se retrouve dans n'importe quel type cellulaire (membrane unitaire de Robertson, 1959).

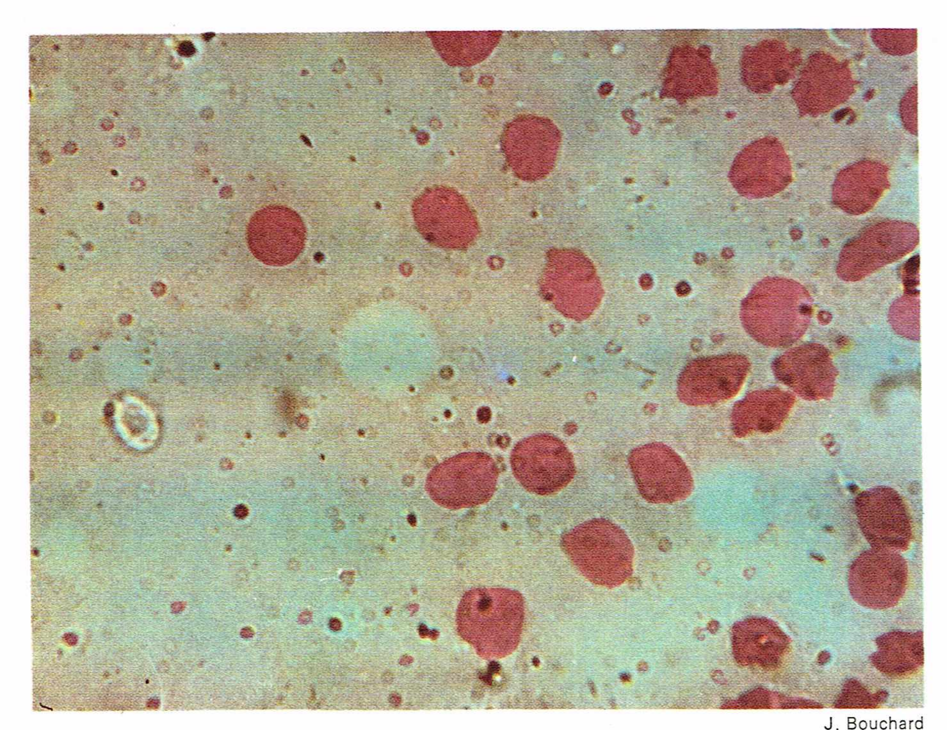


C. Bouchard

▲ Le plasmalemme est un élément cellulaire structuré. Microscopie électronique d'une grégarine (Protozoaire parasitant ici le tube digestif d'une ascidie). Sa paroi cytoplasmique est particulièrement complexe 1, cellule de l'hôte; 2, grégarine; 3, plasmalemme de grégarine.

— *Nature chimique de la membrane.*

Overton avait remarqué, dès 1902, que les cellules absorbent très facilement les lipides; d'autre part, comme les enzymes des lipides, ou leurs solvants, modifient et détruisent partiellement les membranes, on a pu penser qu'elles étaient essentiellement constituées de lipides. Cependant, des mesures de tension superficielle au niveau de la membrane montrent qu'il n'y a pas de contact direct entre les lipides et le milieu extérieur (Favard, 1973). Comme la surface des cellules montre une activité enzymatique et qu'il est possible, en utilisant les méthodes d'immuno-fluorescence, d'y mettre en évidence des protéines spécifiques, on doit penser que la membrane est faite de lipides et de protéines.



J. Bouchard

▲ ***Globules rouges distendus en milieu hypotonique; une grande partie de l'hémoglobine a traversé le plasmalemme.***

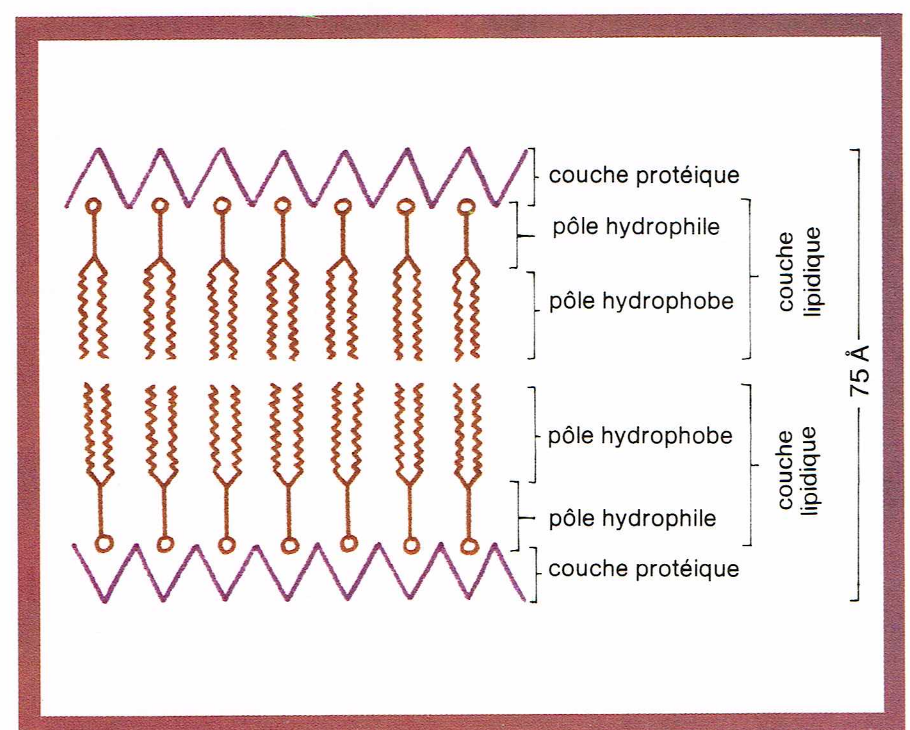
On peut effectuer une analyse chimique de membranes isolées en centrifugeant des hématies en milieu hypotonique et en recueillant un culot de « fantômes d'hématies ». On collecte aussi par centrifugation les membranes d'autres types cellulaires; le traitement qui précède cette centrifugation est alors très différent. Les hématies sont évidemment le matériel le plus pratique, ce type de cellule étant extrêmement simple; dans les autres cas, il y a toujours un risque de contamination du culot par des substances cytoplasmiques, voire nucléaires (Emmelot, Benedetti et Rümke, 1964).

Les lipides sont représentés par des *phospholipides* (lécithines et céphalines); on trouve toujours une certaine proportion de *cholestérol*. En quantité variable suivant les types cellulaires, l'analyse révèle la présence de *cérébrosides* tels que les *gangliosides* (l'un de leurs constituants, l'acide sialique, se trouve en bout de chaîne hydrophile; cet acide joue un rôle essentiel dans la polarisation électrique des membranes). Les protéines sont plus diverses; certaines ont été isolées puis caractérisées; elles sont souvent associées à d'autres familles chimiques (lipoprotéines et mucoprotéines). Les enzymes membranaires sont également diverses; Favard souligne l'importance de phosphatases et de l'ATPase.

— *Localisation des constituants.*

Pour localiser les constituants, il était nécessaire de reconstituer des membranes artificielles en recombinant certaines molécules protéiques et lipidiques. Stoeckenius parvint à faire l'étude de ces membranes au microscope électronique (1959) : il constata que les protéines se disposent de chaque côté d'un film de phospholipides. Ce résultat confirmait l'hypothèse de Davson et Danielli, qui, dès 1936, et en tenant compte des analyses chimiques et des caractères physiques des membranes naturelles, avaient tenté une schématisation de leur architecture moléculaire. Depuis, bien des travaux ont été réalisés. On pense maintenant que cette architecture peut être fortement modifiée, pendant un temps plus ou moins long, suivant l'état physiologique de la cellule et les variations du milieu extérieur. Bien sûr, ces modifications structurales, normalement réversibles, n'affectent pas toujours l'ensemble de la membrane. Benedetti et Emmelot ont montré, en 1965, que *les phospholipides peuvent prendre une disposition micellaire favorisant le passage de l'eau;* il ne faut toutefois pas oublier que les techniques de fixation des membranes provoquent certainement des artefacts, d'autant plus gênants que l'on étudie des structures plus fines, ce qui est bien le cas de la membrane. Notons que des produits chimiques d'origine naturelle sont capables de modifier considérablement la *perméabilité* mais aussi la *charge* de la membrane cytoplasmique; citons seulement à ce sujet le cas des dextranes ou de l'héparine (Hagmar Bjorn, 1972); cela montre la sensibilité, la *plasticité* de la membrane, celle-ci devant être à la fois fonctionnelle et structurale. Enfin, la nature des protéines de la membrane n'est pas la même sur les deux faces. On étudie beaucoup, depuis quelques années, les mucoprotéines externes, extrêmement développées chez l'amibe, et plus difficilement visibles à la surface des autres cellules animales; ces mucoprotéines forment un *« coat »* (manteau), qui peut être mis en évidence par certaines techniques de coloration. Ce revêtement, toujours essentiel, est d'une importance biologique toute particulière pour les cellules qui sont en contact avec un milieu de composition plus ou moins variable (l'épithélium de la vessie urinaire par exemple); on constate que seule la portion apicale de ces cellules comporte un « coat » à la fois épais et actif sur le plan biochimique (Pisam et Ripoche, 1973).

▼ ***Structure schématique de la* membrane cytoplasmique *selon l'interprétation de Davson et Danielli.***



R. Colin

SCHÉMAS DE FONCTIONNEMENT DE LA CELLULE

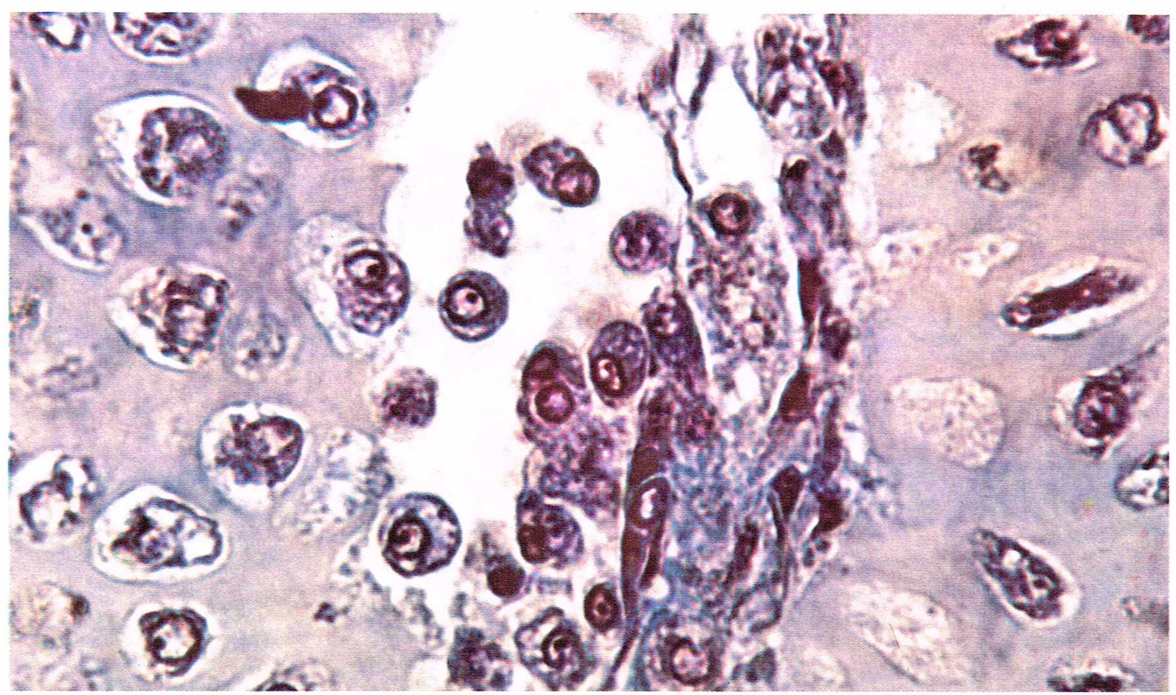
Le fonctionnement de n'importe quelle cellule est d'une très grande complexité. Nous tenterons d'en décrire schématiquement les principaux aspects. Le plan que nous suivrons sera très proche de celui que nous avions adopté au début de ces textes, lorsque nous avons donné les caractères essentiels d'une cellule et de son comportement.

Déplacements de la cellule

Nous avons déjà décrit les mouvements de l'amibe et de cellules ciliées ou flagellées. Bien qu'ils soient encore très mal connus, ces phénomènes méritent une étude un peu plus détaillée.

Mouvements amœboïdes

Les cellules sont très souvent capables de se déplacer. La microcinématographie en accéléré a permis de faire *in vitro* des observations précises; mais on peut déceler des mouvements cellulaires par l'analyse méthodique de coupes histologiques : par exemple, on constate que toutes les *cellules embryonnaires* sont mobiles; la *mise en place* des organes implique souvent des déplacements importants des cellules qui vont constituer les ébauches; ainsi, comme nous le verrons ultérieurement, des cellules qui constituent une partie des glandes surrénales des Vertébrés, viennent, en fait, du bord de la gouttière ner-



J. Bouchard

◀ **Les cellules du cartilage,** ***qui sont enchâssées dans une substance interstitielle abondante et solide, peuvent être*** **mobilisées** ***durant le processus d'ostéogenèse : localement, la substance interstitielle est dissoute ; les cellules*** **changent de forme,** ***sont libérées dans la cavité creusée, puis se groupent et vont participer à la formation de la trame conjonctive qui va se calcifier (ici, cas particulier de l'ossification chez l'embryon d'Oiseau).***

veuse donc d'une région très éloignée du site définitif. Les exemples seraient innombrables.

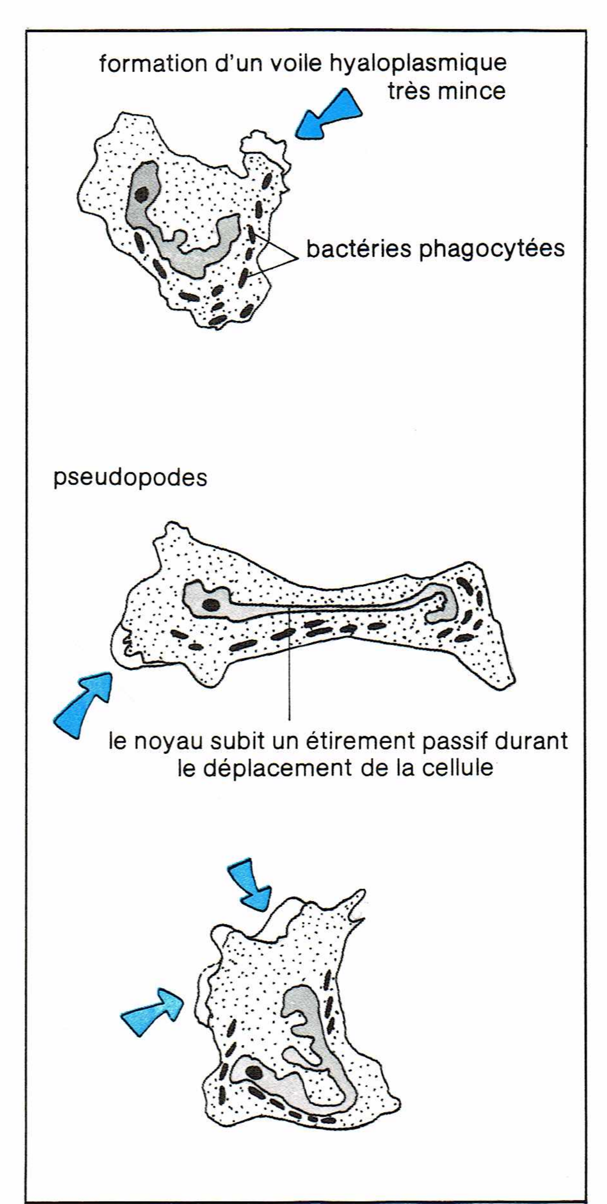
Au cours de la croissance, on constate que la plupart des cellules tendent à se fixer, puis à s'immobiliser ; c'est le cas des cellules du cartilage ou de l'os et, bien sûr, des cellules végétales : l'édification d'un squelette quelconque implique une immobilisation. Suivant le type cellulaire, les mouvements amœboïdes peuvent être plus ou moins prononcés chez l'animal adulte.

C'est chez les Vertébrés que les mouvements ont été le mieux étudiés. Depuis les observations de Jolly (1913) et de Comandon, de nombreux auteurs se sont intéressés aux déplacements des cellules telles que les globules blancs du sang, ou *leucocytes* (Frédéric, Robineaux, Bessis, Policard, etc., de 1930 à nos jours). En contraste de phase, l'accélération du mouvement permet de voir que ces cellules émettent des *pseudopodes,* qui se forment en des points quelconques de la cellule. Ces pseudopodes peuvent être de simples expansions cytoplasmiques, larges ou fines. Souvent la croissance du pseudopode est précédée par la formation d'une très mince nappe purement hyaloplasmique, ou *« membrane » hyaline ;* Robineaux et Frédéric ont pu analyser le déroulement de ce phénomène essentiel, qui permet la capture des Bactéries contenues dans le milieu *(phagocytose).* Lorsqu'elle se déplace, la cellule semble prendre appui et se haler sur son ou ses pseudopodes. La déformation générale de la cellule en mouvement peut être très grande, ce qui lui permet de s'insinuer entre d'autres cellules et de traverser la paroi des vaisseaux *(diapédèse).* Comme le cytoplasme, le noyau montre alors une très grande plasticité.

A 37 °C, la vitesse d'un leucocyte (polynucléaire neutrophile) est en moyenne de 36 µ/mn ; elle atteindrait au maximum 1 µ/s, ce qui est considérable. Cette vitesse diminue si la température s'abaisse ou si le taux de calcium tombe en dessous de la normale. Le déplacement est toujours orienté : la cellule est sensible à diverses substances chimiques, qui ont donc un rôle attractif (chimiotactisme).

Dans les tissus conjonctifs des Vertébrés, on trouve également des *histiocytes,* plus particulièrement des *macrophages,* histiocytes chargés du « nettoyage », de l'élimination des particules étrangères ou des cellules mortes. Les macrophages émettent non seulement des pseudopodes, mais aussi ce que l'on nomme des « membranes ondulantes ». Il s'agit d'expansions foliacées et très mobiles, que Carrel comparait à un « voile de soie très mince agité par le vent ». Ces membranes jouent un rôle déterminant dans la capture des débris.

Ces mouvements du cytoplasme sont, nous l'avons dit, la conséquence d'un *changement d'état* local du hyaloplasme fondamental. La cellule possède une *polarité :*

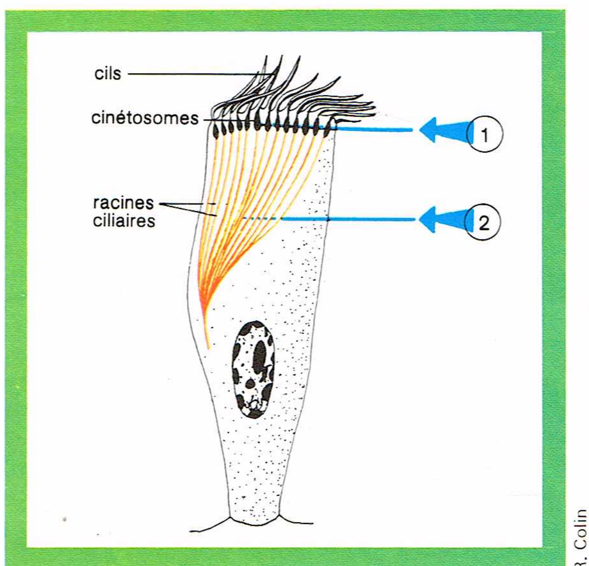


R. Colin

◀ ***Représentation schématique de*** **mouvements amœboïdes :** ***ici, trois aspects d'un globule blanc « polynucléaire » observé pendant environ 5 mn en culture*** **in vitro.**



C. Bevilacqua



R. Colin

▲ *A gauche, coupe d'un épithélium trachéen montrant l'architecture des cellules prismatiques riches en* **cils vibratiles**, *intercalées avec des cellules « caliciformes » sécrétant du mucus (coloration topographique). A droite, représentation schématique du principe de l'*expérience de Worley *(cellule d'épithélium intestinal de Mollusque) ; les cils sectionnés suivant le plan 1 ne manifestent plus aucune activité ; une section pratiquée au niveau 2 n'empêche pas les cils de battre, mais leurs mouvements ne sont plus coordonnés.*

au pôle antérieur, l'endoplasme en migration se gélifie en venant occuper un niveau plus cortical. Des expériences faites sur les Myxomycètes montrent que le hyaloplasme contient un complexe protéique assez semblable à l'actomyosine. En microscopie électronique, on observe des faisceaux de filaments qui sont peut-être responsables d'une partie du mécanisme permettant les déplacements : ils possèdent en effet une activité ATPasique, activité fondamentale pour la contraction de type musculaire.

Cils et flagelles

Nous savons que cils et flagelles permettent des mouvements, souvent très rapides, de cellules animales ou végétales. Nous connaissons déjà l'essentiel de leur structure. Ils se forment grâce à l'intervention des centrioles. Favard considère la maturation du spermatozoïde comme un exemple typique : l'allongement de l'un des éléments centriolaires de la spermatide (jeune spermatozoïde encore globulaire) permet la formation du flagelle durant la spermiogenèse ; ensuite, de nouveaux microtubules s'édifient dans l'évagination flagellaire. Le processus est le même pour des Ciliés du type vorticelle, mais, dans ce cas, il se forme de nombreux centrioles corticaux, lesquels sont responsables de l'apparition de cils ; quand l'animal se fixe et que son pédoncule se forme, les cils disparaissent mais les centrioles ou corpuscules basaux persistent.

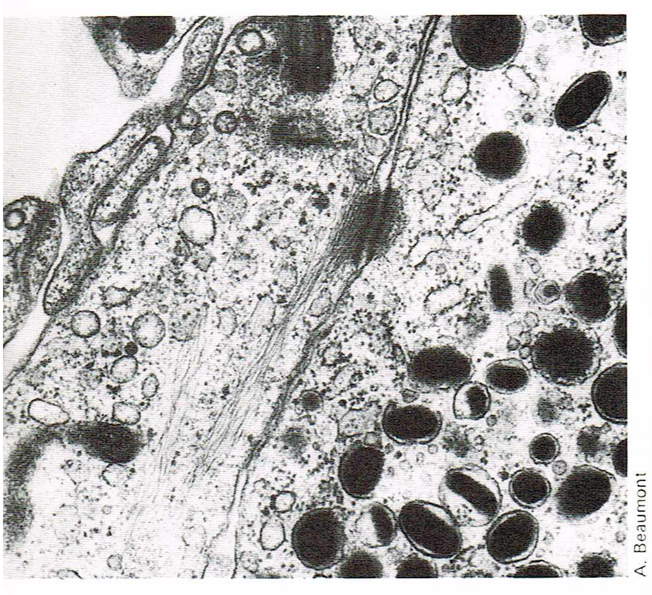
Les battements ciliaires ou flagellaires ont une fréquence qui varie entre 500 et 1 300/minute, l'optimum d'activité dépendant de la nature de la cellule et des conditions du milieu ambiant. Le mouvement est déclenché par les centrioles ; par microdissection, il est possible de couper les connexions cils-corpuscules basaux-racines. En 1941, Worley a montré que les corpuscules basaux permettent bien les mouvements des cils, mais que la coordination est assurée par le réseau de racines ciliaires. On constate qu'il existe généralement une onde de battements ciliaires : selon Sleigh (1957), c'est la contraction d'un premier cil qui entraîne celle du suivant, etc. En fait, le mécanisme qui entraîne le déclenchement coordonné des battements n'est pas élucidé.

On a une idée de la nature et de la disposition des pièces motrices des cils et flagelles, et on tente actuellement d'interpréter leurs fonctions. Les relations des organites cellulaires et des flagelles sont fréquemment très complexes, mais fort intéressantes ; on peut l'observer chez un Protozoaire pourvu de plusieurs flagelles, *Trichomonas*. Les flagelles libres ainsi que celui qui reste inclus dans la pseudomembrane ondulante sont en rapport étroit avec les microtubules du *blépharoplaste,* organite dérivé du centriole, auquel il reste lié ; de plus, le blépharoplaste (homologue des corpuscules basaux des Ciliés) est étroitement associé à des faisceaux de microtubules qui parcourent toute la cellule, formant ce que l'on appelle l'*axostyle ;* enfin, le blépharoplaste est relié par un filament parabasal à un organite, qualifié de *corps parabasal,* et qui n'est autre que l'appareil de Golgi. S'il est donc bien évident que l'appareil de Golgi influence la mécanique des battements flagellaires, son rôle exact n'est toutefois pas connu. Dès 1933, Duboscq et Grassé ont estimé que cet organite est une source d'énergie pour les éléments moteurs des Protozoaires. Cependant, l'axostyle n'est pas seulement un élément de soutien ; en effet, chez divers Flagellés proches de *Trichomonas,* il se déforme et provoque une ondulation de toute la cellule : il est donc, lui-même, un organe locomoteur ; de plus, sa constitution chimique rappelle celle des flagelles et des cils : le complexe protéique trouvé à ce niveau est identique à ce que Gibbons a décrit, de 1962 à 1965, chez les Ciliés : la *tubuline* est, en fait, associée à plusieurs autres protéines : la *dynéine,* la *nexine* et des *protéines secondaires*. Comme la microscopie électronique révèle que les microtubules de l'axostyle sont effectivement reliés par des ponts protéiques (dynéine) extrêmement fins (Mooseker et Tilney, 1973) et comme les microtubules ne seraient pas contractiles par eux-mêmes, on peut estimer que c'est la protéine de liaison qui se contracte, provoquant un glissement des microtubules les uns sur les autres, donc l'ondulation de l'axostyle. (Ce phénomène, s'il a effectivement lieu, est d'une importance biologique absolument essentielle : nous y reviendrons en étudiant la division cellulaire.) Or, l'ondulation de l'axostyle peut être obtenue *après son isolement* dans un milieu contenant de l'ATP et des ions Mg, observation qui rend de plus en plus énigmatique le rôle du Golgi et du matériel centriolaire. Quoi qu'il en soit, on peut estimer que *la mobilité cellulaire est due à l'association temporaire de molécules protéiques* (Inoué et Sato, 1967).

Mouvements intracytoplasmiques. La cyclose

Les mouvements intracytoplasmiques sont évidents quand on observe une paramécie dont les vacuoles digestives ont été colorées par du rouge neutre. La cyclose des végétaux est encore plus commode à étudier ; il suffit d'observer au microscope une feuille d'élodée : on voit les chloroplastes se déplacer tout autour de la vacuole centrale, entraînés par le mouvement cytoplasmique. Ce flux, qui dépend directement de la température et des conditions d'éclairement, mérite beaucoup d'attention car il pose un problème de même nature que ceux que nous avons évoqués dans les lignes précédentes.

On estime que les forces qui entraînent le mouvement de cyclose prennent naissance au niveau de l'interface sol-gel. Comme le précise Favard, la destruction locale d'une très petite quantité de hyaloplasme cortical gélifié provoque l'arrêt de la cyclose. Dans ce gel cortical, le microscope électronique révèle la présence de très nombreux *microtubules* orientés parallèlement à la surface. On a maintenant des raisons de penser que des protéines contractiles prennent appui sur ces microtubules ; c'est leur contraction qui entraînerait la cyclose.



A. Beaumont

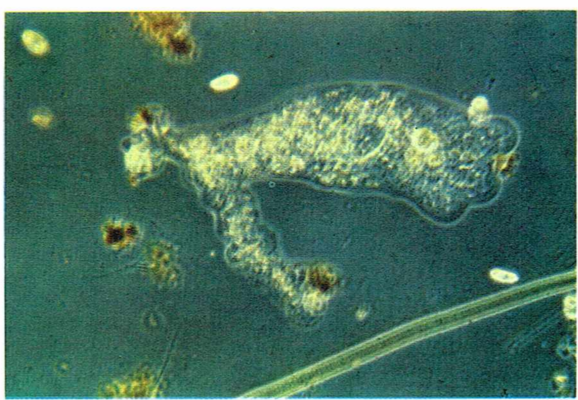
◀ *A gauche, microscopie électronique d'un* **desmosome** *entre deux cellules de pancréas exocrine (Amphibien); à ce niveau, l'espace intercellulaire est rempli de matériel dense aux électrons; au voisinage de la membrane cytoplasmique, le hyaloplasme est également très dense; un faisceau de tonofilaments se termine au niveau de cette zone dense.*

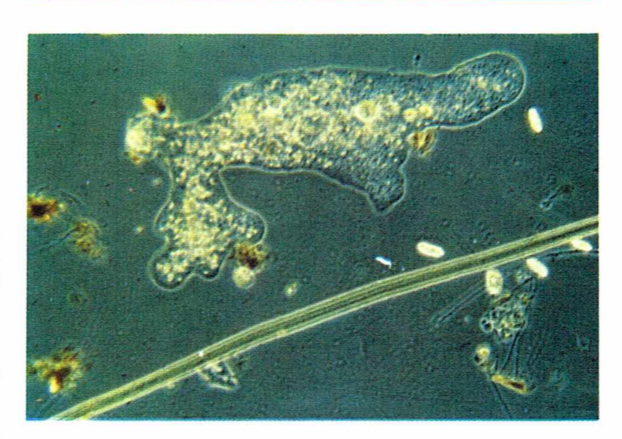
Remarques générales sur la forme et la mobilité des cellules

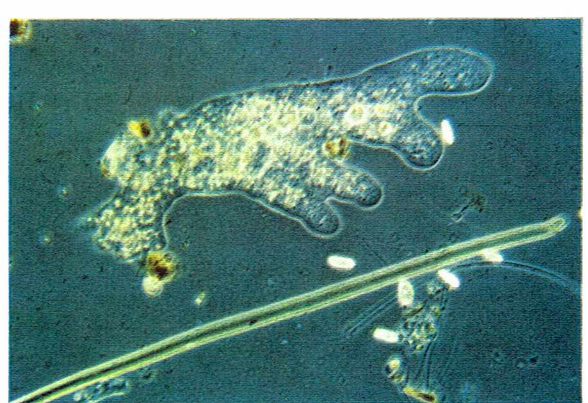
La plupart des végétaux et des animaux unicellulaires se déplacent, d'une manière ou d'une autre; il en est de même pour les cellules jeunes des pluricellulaires. Cela implique des déformations plus ou moins importantes des cellules, même chez les Flagellés ou les Ciliés pourvus d'organes locomoteurs très complexes. Toutefois il ne faut, à cet égard, pas perdre de vue le fait que toutes les cellules vivantes possèdent une *forme,* une « allure » qui, dans l'ensemble, est assez caractéristique; de fait, un équilibre est réalisé entre le maintien de la forme et le « besoin » de mouvement du protoplasme. Cet équilibre n'est pas le même pour chaque espèce cellulaire : ainsi, le maintien de la forme paraît être extrêmement rigoureux pour les cellules de notre épiderme, alors que le hyaloplasme n'est pas mécaniquement inerte; par contre, chez l'amibe, le hyaloplasme est éminemment plastique, mais on peut cependant déterminer telle ou telle espèce grâce aux caractères précis des pseudopodes : leur nombre, leur forme, leur comportement permettent de « s'y retrouver » dans une taxonomie, au demeurant fort complexe (traité de Kudo). Entre ces extrêmes, il y a tous les intermédiaires.

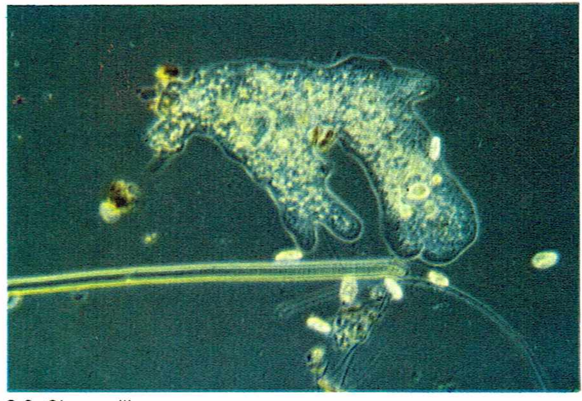
Le maintien de la forme d'une cellule est réalisé par différents moyens. Nous avons vu qu'il existait de nombreux *microtubules* parallèles à la surface de la cellule des végétaux supérieurs; on estime que ces tubules confèrent une certaine rigidité au cytoplasme cortical, ce qui permet à la cellule d'acquérir une forme polyédrique et non subsphérique. C'est aussi le cas, de manière particulièrement frappante, pour les axones des cellules nerveuses, c'est-à-dire pour les très longues expansions cytoplasmiques chargées de conduire l'influx : les microtubules, très serrés, constituent une part essentielle du volume des axones, au point qu'ils donnent à ceux-ci une biréfringence très remarquable. Il existe d'autres exemples : les *tonofilaments* signalés dans le cas des cellules épidermiques sont également des éléments de soutien très efficaces; ils convergent au niveau de points précis du plasmalemme qui sont « en contact » avec une cellule voisine; ces points particuliers correspondent à des *desmosomes.* Un desmosome est constitué par deux épaississements discoïdaux du plasmalemme de deux cellules voisines; on trouve, entre ces épaississements, dans l'espace intercellulaire, une accumulation de matériel dense aux électrons et qui sert de *ciment* pour la liaison des cellules épithéliales.

Enfin, il faut noter que bien des types cellulaires sont associés dans un tissu, non seulement par des desmosomes, mais aussi par contact direct et local des *membranes qui se soudent* au niveau de *« barres terminales »;* de plus, les cellules peuvent s'associer en s'emboîtant, sans aucune soudure, suivant le principe tenon-mortaise, grâce à des *interdigitations.* Dans tous les organes ani-



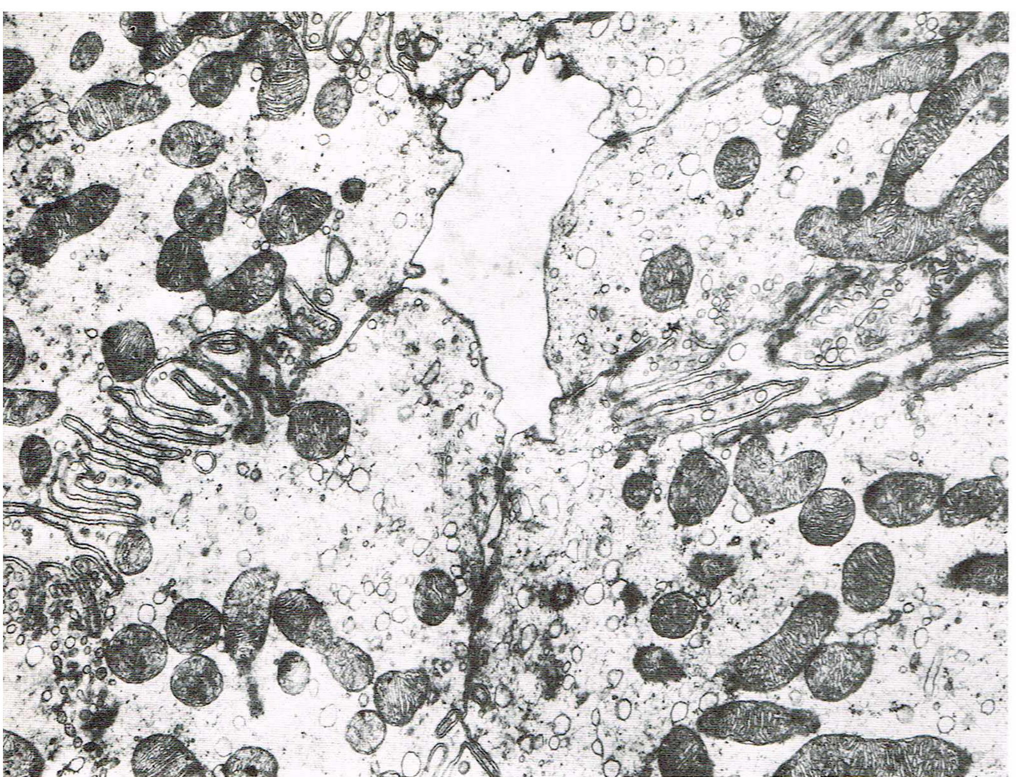






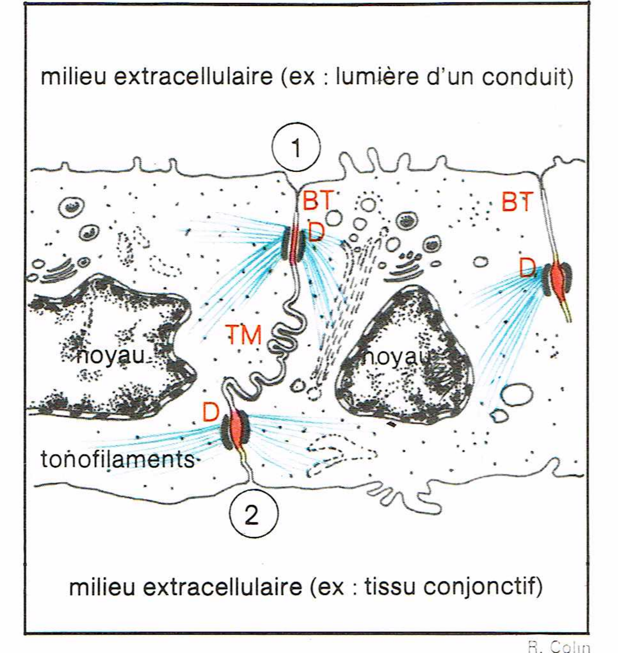
G.S. Giacomelli

◀ *De haut en bas, ces cinq illustrations montrent la formation des* **pseudopodes** *et le mode de progression chez l'amibe* **Amoeba proteus.**



A. Beaumont

▲ *Association de cellules d'un canal excréteur suivant le* principe tenon-mortaise; *dans ce cas particulièrement frappant, les* interdigitations *cellulaires assurent la solidité de l'épithélium (Amphibien; microscopie électronique).*



R. Colin

▶ *Représentation schématique des* dispositifs d'accrochage *entre des cellules voisines : au niveau des* barres terminales *(BT), les membranes cytoplasmiques, accolées, empêchent le passage direct des substances de 1 vers 2; au niveau des* desmosomes *(D), les membranes sont relativement plus écartées (en rouge, espace intercellulaire chargé d'un ciment dense aux électrons; en noir, matériel dense accumulé dans les cytoplasmes, c'est à ce niveau que convergent les tonofilaments); emboîtement de deux cellules suivant le principe* tenon-mortaise *(TM)*



J. Hourdry

▶ Microvillosités *de l'épithélium intestinal d'Amphibien (fixation glutaraldéhyde-acide osmique); les microvillosités saillant dans la lumière sont soutenues, au sein du cytoplasme, par un « squelette » de* microfilaments *(microscopie électronique).*

maux, les espaces intercellulaires sont occupés par une solution complexe où l'on trouve diverses molécules, en particulier des mucopolysaccharides; l'*acide hyaluronique* est un constituant essentiel de cette solution, plus ou moins dense chez les Vertébrés.

Certaines variations du milieu intercellulaire, d'ordre physiologique ou pathologique, peuvent entraîner la libération et, parallèlement, la mobilisation des cellules qui formaient un organe. Cela se produit dans les cas de bourgeonnement, chez les Invertébrés coloniaux par exemple, et dans les cas de remaniement tissulaire, de régénération et de tumorisation (invasion cellulaire avec ou sans métastases).

Le type le plus parfait d'association cellulaire est réalisé par les cellules des végétaux qui sécrètent un squelette pectocellulosique ou par les cellules de l'os et du cartilage des Vertébrés qui se trouvent enchâssées dans une matière fondamentale, un milieu intercellulaire extrêmement solide.

En résumé, il apparaît que la forme d'une cellule et sa mobilité sont des caractères étroitement liés. Parler des mouvements d'une cellule implique donc que l'on parle de sa forme caractéristique; cela d'autant plus que, dans bien des cas, les éléments contractiles moteurs du cytoplasme prennent appui sur des éléments tels que les microtubules, structures semi-rigides de la cellule.

Rapports de la cellule avec son milieu

L'activité cellulaire se manifeste par l'*absorption* de corps chimiques très divers et par l'*excrétion* de déchets ou la *sécrétion* de substances dont le rôle est très précis. Les cas particuliers sont innombrables, et nous ne donnerons ici qu'un schéma d'ensemble.

Absorption de substances chimiques

L'absorption de substances peut se faire, par diffusion ou par transport actif, à travers les espaces intermoléculaires du plasmalemme. On sait que l'existence de pores membranaires temporaires est très discutée. Quel que soit le système de transport, la microscopie électronique permet de constater que les cellules dont l'activité d'absorption est importante sont pourvues d'un plasmalemme de très grande surface : l'augmentation de surface est réalisée par la formation de *profondes invaginations* cytoplasmiques ou, au contraire, de *microvillosités*. On comprend facilement l'importance d'une telle augmentation de surface : la cellule rénale, par exemple, absorbe intensivement des molécules de déchets qui pourront être ensuite expulsées dans les voies urinaires; c'est donc une fonction considérable; la cellule intestinale absorbe, par contre, les molécules nutritives. Favard estime que la surface d'une cellule intestinale pourvue de microvillosités est « dix mille fois supérieure à ce qu'elle serait si la membrane plasmique était plane ».

L'absorption peut s'effectuer selon d'autres modes permettant la capture de particules volumineuses ou de gouttelettes qui seront ensuite entraînées dans le cytoplasme. Le mécanisme est assez semblable à celui de la formation des vacuoles nutritives d'un Protozoaire Cilié.

On parle de *phagocytose* quand la cellule absorbe des particules (ferritine, Bactéries, etc.) et de *pinocytose* quand elle capture du liquide.

On sait que la phagocytose est un système d'absorption très utilisé par diverses cellules sanguines ou par des cellules apparentées, telles que les histiocytes que l'on trouve dans le conjonctif. La capture des Bactéries est encore appelée *microphagie* (Metchnikoff), et celle des débris de cellules mortes, voire de cellules entières, correspond à la *macrophagie*. La phagocytose est déterminée par la nature chimique de la particule. En effet, la cellule ne capture pas n'importe quoi. Une amibe, par exemple, subit un chimiotactisme qui lui permet de rechercher sa nourriture; d'autre part, les leucocytes peuvent « choisir » d'une manière assez semblable : l'injection d'une suspension de streptocoques et de *Bacillus proteus* dans la cavité péritonéale d'un animal de laboratoire est suivie par une augmentation d'activité des leucocytes se trouvant dans cette cavité, mais ceux-ci ne phagocytent que le *Bacillus proteus* (Bordet); cette faculté discriminatoire de la cellule phagocytaire est un



J. Bouchard

◀ ***Phénomène de* pinocytose *chez la souris. La formation d'une microvésicule d'endocytose est bien observable; on voit que cette vésicule entraîne, au sein du hyaloplasme, un matériel dense aux électrons et qui tapisse la surface du plasmalemme : vp, vésicule de pinocytose (microscopie électronique).***

phénomène encore imparfaitement interprété. Par contre, on a établi depuis longtemps que les immun-sérums, injectés dans l'organisme d'un animal chez lequel on déclenche une infection expérimentale, favorisent l'activité phagocytaire (Stuhlman). On sait quelles sont les substances favorisantes; leur production dépend directement du pouvoir de défense de l'animal qui a servi à la préparation du sérum. La cinétique de la phagocytose, en particulier de la macrophagie, a été bien étudiée, grâce à la microscopie en contraste de phase. L'importance des membranes ondulantes est un des caractères essentiels des cellules phagocytes : ces voiles hyaloplasmiques permettent d'englober le matériel à absorber.

La pinocytose est de nature très voisine, mais il faut en distinguer deux modalités. Dans la première, correspondant à la pinocytose observée en *microscopie optique*, avec des macrophages, la membrane ondulante prend dans le milieu une gouttelette de liquide, qui est ensuite entraînée dans le cytoplasme, puis fragmentée. Ce phénomène, découvert par Lewis en 1931, n'avait guère retenu l'attention à l'époque, mais, dès 1953, Chèvremont pensait qu'il s'agissait là d'un processus d'intérêt général. Dans la seconde modalité, l'utilisation du microscope électronique a permis de constater qu'il existe une *micropinocytose* très importante chez un très grand nombre de types cellulaires. Ainsi, Fawcett a pu la mettre en évidence au niveau du plasmalemme de jeunes globules rouges (1965); il a vu se former de très petites invaginations de la membrane, qui s'emplissent de matériel protéique dense aux électrons, matériel protéique d'abord *concentré* sur des points précis du plasmalemme; ensuite, ces invaginations, qui pénètrent de plus en plus dans le cytoplasme se pédiculisent, s'étranglent et se transforment en *microvésicules*, lesquelles vont transiter fort loin dans la cellule. La micropinocytose s'observe dans de nombreuses cellules, essentiellement des cellules animales. Le phénomène est vital pour les Ciliés; on le retrouve aussi, par exemple, dans les cellules du revêtement des alvéoles pulmonaires ou dans les cellules hépatiques, thyroïdiennes, etc. Comme la phagocytose, la pinocytose est déclenchée par des stimuli de nature chimique; par exemple, un Protozoaire Cilié ne constitue pas de vacuoles de pinocytose si le milieu est une solution purement minérale, et un apport de peptides induit leur formation.

Que deviennent les substances absorbées? Biosynthèse des acides nucléiques.

De très nombreuses substances peuvent traverser le plasmalemme; par contre, les molécules très volumineuses pénètrent dans la cellule par pinocytose ou phagocytose.

Les substances qui traversent le plasmalemme sont directement utilisables pour des synthèses; par contre, pour que la pinocytose et la phagocytose puissent intervenir dans l'alimentation cellulaire, il faut que des enzymes traversent la membrane des vacuoles et fragmentent les grosses molécules.

Enfin, la pinocytose peut être simplement un système de transport à travers la cellule : les substances absorbées sont ensuite rejetées (par exemple, lumière intestinale → cellule intestinale → sang).

Dans le cadre de cet exposé, il est rigoureusement impossible d'envisager ce que vont devenir la plupart des molécules absorbées. Nous nous bornerons au cas des précurseurs des acides nucléiques.

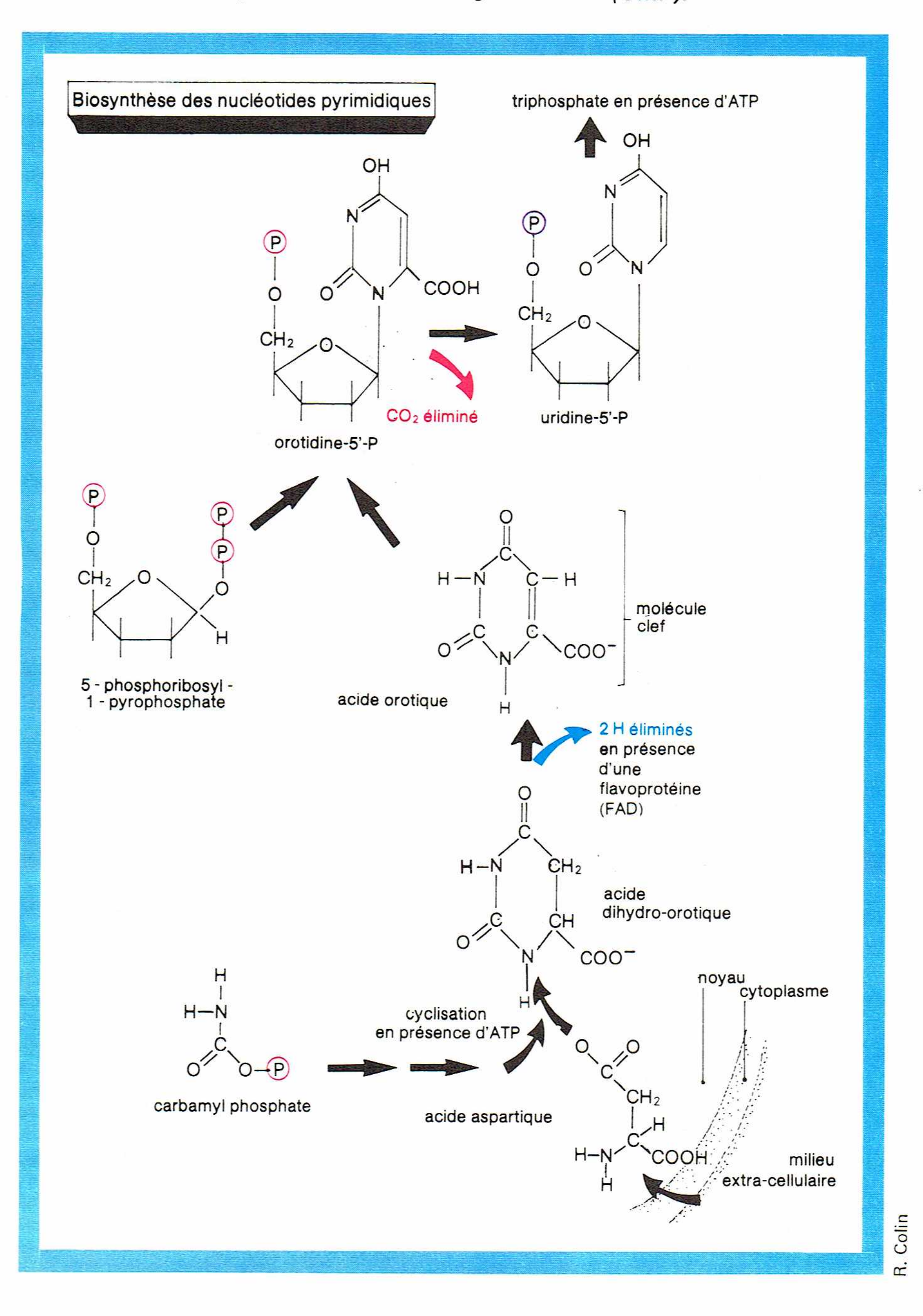
— *La biosynthèse des acides nucléiques. Interprétation des faits expérimentaux.*

Tout le fonctionnement de la cellule dépend des acides nucléiques. Savoir comment ils se forment et ce qu'ils deviennent est donc crucial.

La biosynthèse des *nucléotides* s'effectue grâce à de petites molécules facilement absorbées. Elle nécessite la présence de molécules riches en énergie, en particulier de l'ATP. Trois acides aminés sont indispensables : l'acide aspartique, le glycocolle et la glutamine. Le glucide est utilisé sous forme de 5' phospho-ribosyl-pyrophosphate. La synthèse des nucléotides *pyrimidiques* s'effectue dans le noyau; elle est très active dans le noyau quiescent, c'est-à-dire entre deux divisions mitotiques. La synthèse des nucléotides *puriques* est particulièrement complexe.

Chez *Escherichia coli*, certaines mutations peuvent impliquer des arrêts de biosynthèse (Cohen et Barner, 1954); la Bactérie peut ainsi devenir exigeante en

▼ ***Biosynthèse des* nucléotides pyrimidiques *(d'après Karlson) : exemple de la synthèse d'uridine-5'-phosphate (UMP).***



R. Colin

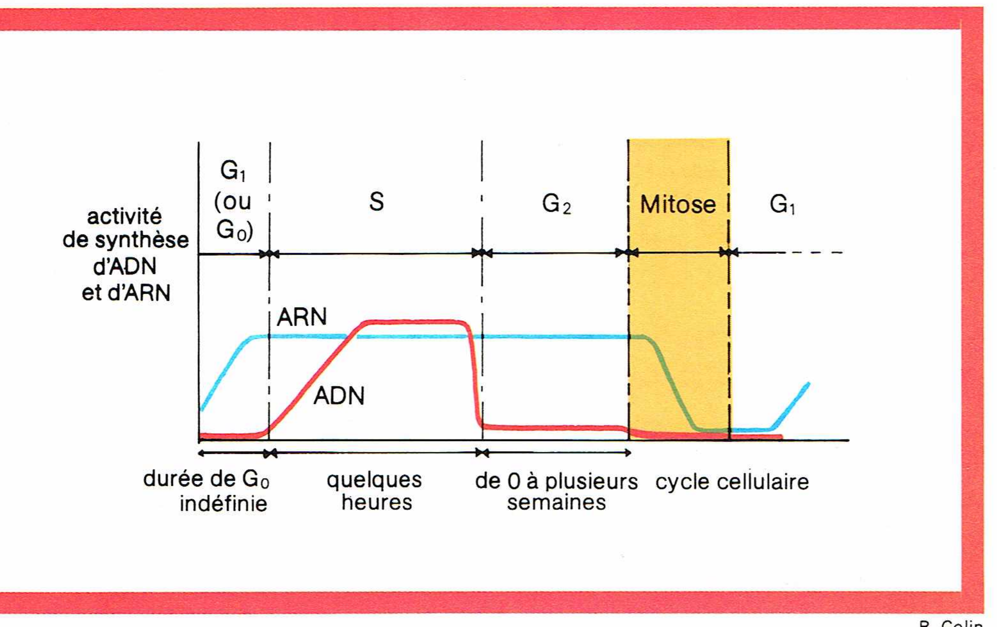
thymine, et il faudra lui fournir la base pour que la synthèse se poursuive.

La biosynthèse des *acides nucléiques* dépend de facteurs qui sont bien mal connus : un « événement préalable » (Odartchenko) doit avoir lieu pour que la reproduction de l'ADN se déclenche. Une réserve, un *pool* de nucléotides est, bien sûr, indispensable, mais des modifications du *pool* de désoxyribonucléosides n'influent pas sur l'ADN polymérase ou sur la synthèse d'ADN. On estime que l'événement préalable est constitué par la synthèse d'une courte séquence d'ARN « paradoxal », synthèse dépendant d'un système hypothétique, le *réplicon*.

On peut mettre en évidence la *synthèse d'ADN* en introduisant de la thymidine marquée (thymidine tritiée ^3H) dans l'organisme ou dans le milieu de culture des cellules que l'on veut étudier; on utilise diverses concentrations de thymidine, puis on prélève des cellules après des périodes plus ou moins longues. Il est alors possible d'effectuer des autoradiographies qui permettent de *localiser* les sites de synthèses de l'ADN et de voir quelle est la *cinétique* de cette synthèse.

La dose de thymidine utilisée est, chez un Mammifère, voisine de 0,5 μC/g de poids corporel; il est donc bien évident que l'animal subit alors une certaine irradiation, mais il ne semble pas qu'elle provoque de troubles suffisants pour perturber notablement l'expérimentation.

Après un temps d'irradiation jugé suffisant, on peut révéler puis observer les émulsions photographiques coulées sur les cellules à étudier. On repère des grains d'argent au niveau de la chromatine. Il y a aussi marquage cytoplasmique, mais il est labile et très difficile à étudier. La vitesse d'incorporation de thymidine tritiée n'est pas la même dans le noyau et dans le cytoplasme, ce qui tend à prouver que les ADN sont fonctionnellement bien différents dans ces deux sites. Seules les cellules capables de se diviser ultérieurement sont « marquées ».



R. Colin

▲ ***Représentation schématique du cycle des synthèses d'acides nucléiques : on distingue des phases durant le cycle cellulaire (leur durée, relative, varie énormément selon les cas, et est ici totalement arbitraire; les taux relatifs d'ADN et d'ARN synthétisés sont également arbitraires).***

Dans une même population cellulaire, le marquage n'est pas général : en effet, la synthèse d'ADN ne s'effectue pas entièrement durant la période qui sépare deux divisions mitotiques; on détermine ainsi, dans le noyau « quiescent », une période de synthèse, S, qui est encadrée par deux périodes d'inactivité (sur le seul plan de l'ADN) ou périodes G_1 et G_2 (G vient de l'anglais *gap*, brèche). La synthèse d'ADN demande généralement plusieurs heures : 7-8 h pour les cellules de la moelle osseuse, par exemple (Odartchenko). Pour les cellules qui ne se divisent pas — soit qu'elles n'en aient plus la possibilité, soit qu'elles restent en réserve — on définit une période G_0; ces cellules ne peuvent être décelées que par un traitement continu ou répété à la thymidine ^3H. Certains chercheurs ont constaté qu'il devait exister, dans des cellules qui ne se divisent pas, un remaniement métabolique discret de l'ADN (Roels, 1966; Pelc, 1964). Ce point reste discuté. Ce remaniement porterait sur les portions hétérochromatiniennes. Le problème est important pour tous les phénomènes génétiques, puisque l'on envisage que l'hétérochromatine effectue un contrôle quantitatif de l'activité des gènes de structures (Guillé et Quétier, 1973).

— *La synthèse des ARN cellulaires se fait essentiellement au contact de l'ADN nucléaire.* Cela peut être mis en évidence par la technique de marquage. Des résultats, très démonstratifs, ont pu être obtenus (Zalokar, 1960; Prescott, 1964) grâce à l'uridine et à la cytidine H. La cellule absorbe continuellement le matériel nécessaire à la formation des précurseurs et en fait autant des précurseurs eux-mêmes. En fait, la synthèse d'ARN s'effectue de façon quasi continue au niveau du matériel chromatinien; on note une seule interruption, qui correspond à la fin de la division cellulaire; cependant, durant la mitose, la cellule accumule encore des précurseurs, et cela même s'ils ne sont pas entraînés dans les synthèses d'ARN. Les ARN fabriqués dans le noyau sont ensuite transportés dans le cytoplasme; nous avons vu qu'il en existe trois formes et nous savons qu'ils permettent les synthèses protéiques.

Mais une partie de l'ARN synthétisé ne quitte pas le noyau, ou du moins s'y trouve retenue plus longtemps (Prescott, 1963). On parle d'un *ARN lié à la chromatine* par l'intermédiaire de protéines acides ou neutres, elles-mêmes plus ou moins associées aux protéines basiques (histones); des régions déterminées de la chromatine pourraient alors être reconnues par des *ARN chromosomiques* spécifiques (Guillé et Quétier). Heyden et Zachau (1971) ont cependant montré que l'ARN chromatinien peut jouer un rôle d'ARN de transfert; par ailleurs, les expériences de Dahmus et Mac Connell (1969) ont souligné la diversité des ARN chromosomiques, nettement plus *variés* que les ARN de transfert. De toute manière, le rôle de ces ARN particuliers doit être important car ils ne se lient pas n'importe comment à l'ADN : ils se fixent sur des segments redondants (expériences d'hybridation de Sivolap et Bonner, 1971).

L'*ADN extrachromosomique* peut être décelé par ultracentrifugation. On le trouve dans les mitochondries et les chloroplastes. En 1966, Nass, Van Bruggen, Sinclair et Stevens, simultanément, ont vu des molécules circulaires d'ADN mitochondrial. Cet ADN est observable dans divers matériels; Stevens en a trouvé chez les Levures et Charret en étudie non seulement l'aspect mais aussi la transcription, grâce à une technique d'extraction fort délicate : des *ARNm en formation* sont parfaitement observables. Des polysomes l'ont été également sur les filaments d'ARNm. L'*ADN mitochondrial* contient aussi l'information nécessaire pour *divers ARNt*. Mais dans la mitochondrie, une partie des ARNt s'hybride seulement avec l'ADN nucléaire (Cohen et coll., 1970); selon Aloni et Attardi (1972), il semble qu'une partie des ARNt mitochondriaux soient d'origine nucléaire. La synthèse des ARN propres à la mitochondrie est difficile à étudier, car l'actinomycine D ne traverse pas ses membranes (Neubert et coll., 1968; Delain, 1972). Pourtant, cette substance (AMD) freine l'incorporation mitochondriale d'uridine tritiée : selon Curgy (1973), l'AMD empêcherait, dans le hyaloplasme, la synthèse de facteurs protéiques responsables de la transcription au niveau mitochondrial.

Toute activité de biosynthèse dépend de la structure et du fonctionnement des acides nucléiques.

— *Problèmes fonctionnels posés par la structure hétérogène des acides nucléiques.*

L'existence d'une *redondance interne* dans le génome est un problème fascinant; elle existe, à des degrés différents, chez la plupart des organismes vivants et semble déterminer une partie des mécanismes des synthèses protéiques.

Chez des virus (Bactériophages) et des Bactéries, on a trouvé de *longues séquences de pyrimidines* sur la molécule d'ADN (« clusters »). Quant aux Eucaryotes, ils montrent plusieurs types de séquences redondantes : par exemple, des *poly A-T* de Levures, du crabe et de la drosophile, et des séquences d'ADN *amplifiées*. Guillé et Quétier notent que l'ADN satellite redondant de la souris a été le mieux étudié; mais il y en a aussi chez les plantes (Guillé et Quétier, 1970) ou d'autres animaux. Le cas des Amphibiens, et en particulier de l'œuf de

ON

centromère

séquences redondantes

3' ADN (2 brins spiralés) 5'

5' 3'

gène 18S

gène 28S

espaceur (G + C dominants)

ARN_r transcrit

l'ARN polymérase commence la transcription à ce niveau

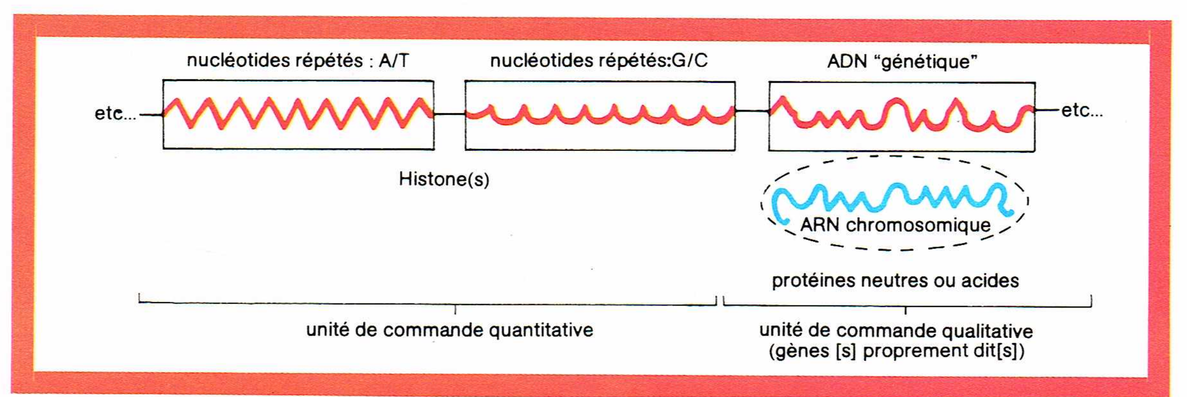
dans le cas du xénope, cette unité est répétée environ 500 fois dans l'organisateur nucléolaire

R. Colin

◀ ***Représentation schématique de l'aspect d'un* chromosome *d'Amphibien comportant un* « organisateur nucléolaire ».**

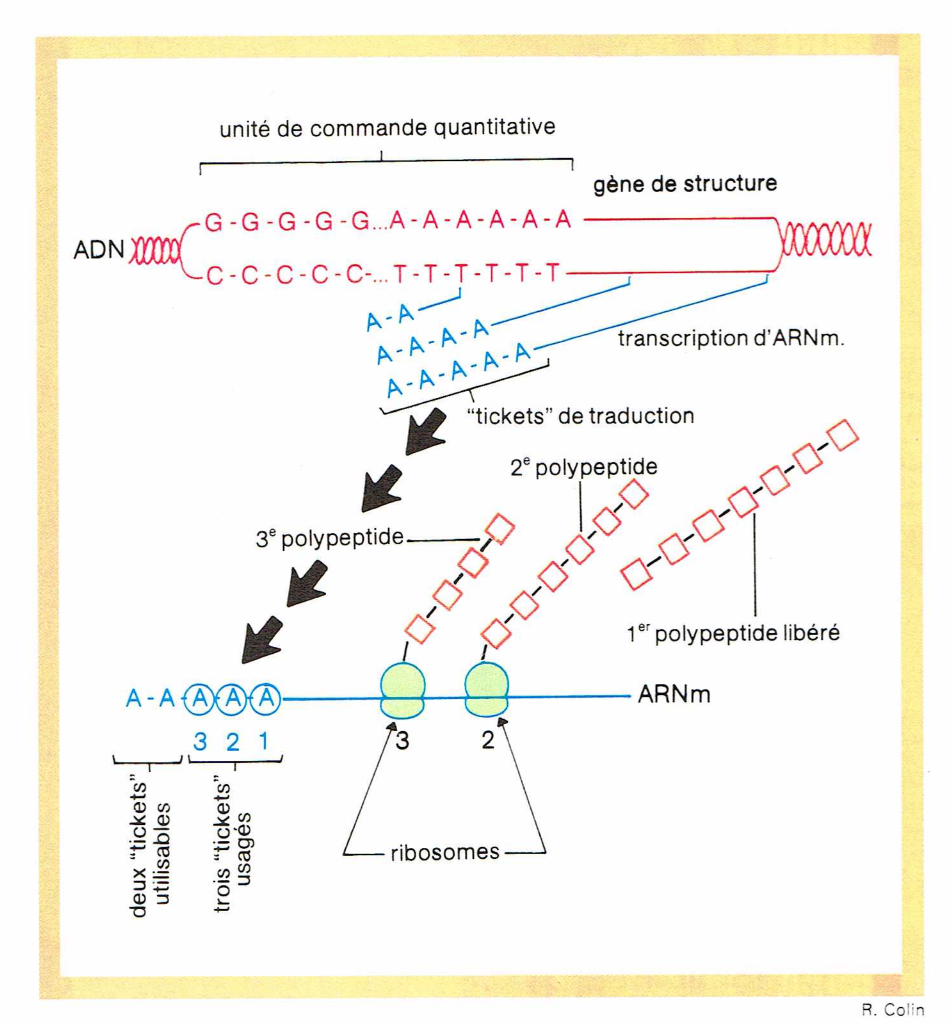
xénope, mérite quelques remarques; selon Denis (1974) aucun gène de structure n'a encore été isolé ou caractérisé dans les cellules somatiques des Eucaryotes, mais il est possible d'y parvenir avec les gènes qui codent pour les ARN ribosomiques 28S, 18S et 5S. Les deux premiers gènes sont contenus dans les *organisateurs nucléolaires,* sites bien localisables en microscopie optique sur deux chromosomes (voir « mitose »). Chaque organisateur comporte 500 gènes 28S et 18S, tous identiques et placés « à la queue leu leu » *(séquences redondantes)*. Or la partie transcrite de chacun des gènes correspond seulement au quart de la longueur totale des deux brins d'ADN. Le reste est constitué par une séquence où la guanine et la cytosine sont très abondantes. Ces deux bases représentent 66 % du poids de l'ADN considéré, alors qu'il n'y en a que 42 % dans le reste des brins d'ADN chromosomique; on comprend aisément que l'ADN qui code pour les ribosomes constitue « un satellite bien distinct en gradient de CsCl ». Quant aux gènes 5S, on les trouve sur plusieurs chromosomes, ils sont localisés à leur extrémité. Chez le xénope, on a dénombré 50 000 gènes 5S. Dans chacun d'eux, la partie pouvant être transcrite ne représente que 1/6 de la longueur du gène (Brown et coll., 1970 et 1971). Qu'il s'agisse des gènes codant pour les ARN 28S et 18S ou pour les 5S, on voit que la redondance des séquences d'ADN est très importante et que, d'autre part, les portions ne pouvant être traduites constituent l'essentiel de cet ADN.

Quelle serait la signification des redondances? Selon Denis, elles auraient un rôle dans l'*architecture* de la chromatine située en bout de chromosome, ou au niveau d'étranglements (voir « mitose »). Cette interprétation, qui date de 1967 (« housekeeping » de Walker), est contestée (Southern, 1970). Guillé et Quétier ont proposé un schéma de fonctionnement dans lequel les redondances constitueraient un système de *codage quantitatif*. Ils remarquent d'abord que l'hétérochromatine du bout des chromosomes et des points « particuliers » tels que les centromères (voir « mitose ») contiennent les séquences redondantes, et cela chez tous les organismes étudiés; par contre, l'hétérochromatine intercalaire, nettement répartie tout au long des chromosomes, ne contient que des nucléotides répétés; ces résultats ont été obtenus par autohistoradiographie (Yunis et Yasmineh, 1969-1970, et Henning et coll., 1970). Partant du principe que *chaque gène est en fait un complexe, constitué par la séquence génétiquement active et une portion d'ADN où les nucléotides sont disposés de manière plus ou moins hautement répétitive,* ils estiment que ces nucléotides ou des groupes de nucléotides correspondent à des *tickets* de fonctionnement. En d'autres termes, un ticket donne au gène associé la possibilité de coder pour un



R. Colin

◀ ***Schéma de la structure d'une unité de synthèse de l'ADN (d'après Guillé et Quétier).***



ovocyte de xénope

formation de la capsule hétérochromatinienne

(2.10^6 gènes 28S et 18S)

amplification

durant les étapes ultérieures de maturation de l'ovocyte, les molécules d'ADN se répartissent dans de nombreux nucléoles.

une molécule de cet ADN (circulaire), copie amplifiée d'une portion de l'organisateur nucléolaire

- chaque point rouge représente un gène ribosomique (double hélice)
- espaceurs non figurés
- filaments bleus : ARN (40 S) en formation
- boules jaunes : ARN polymérase

R. Colin

R. Colin

▲ *A gauche, principe d'action des « tickets » constitués ici de nucléotides répétés (d'après Guillé et Quétier). A droite,* **localisation et transcription** *de l'ADN* **extrachromosomique** *de l'ovocyte de xénope (d'après Denis, Miller et Beatty).*

ARN; le ticket lui-même n'est *pas nécessairement transcrit* et, de toute manière, est « éliminé » avant la traduction.

Ces auteurs constatent l'existence de faits lourds de signification.

Pour être efficaces, les zones qui comportent des nucléotides répétés *doivent être reconnues* par des polymérases ou des répresseurs; or, la chose est possible (Kubinski, 1966, etc.). Ensuite, après réplication ou transcription, les produits calqués sur la forme d'hétérochromatine *pourraient comporter des nucléotides répétés;* en fait, c'est le cas pour la molécule d'ADN répliqué de Bactériophages ou de la Bactérie *E. coli* (Malling et de Serres, 1970). Les résultats sont assez voisins, mais plus complexes, avec les Eucaryotes. Des redondances ont été trouvées (Hurwitz, 1963; Georgiev et coll., 1971 ; Coutelle, 1970) dans le cas des cellules hépatiques ou celui des jeunes hématies chez lesquelles l'ARNm 9S, responsable de la synthèse de la chaîne de l'hémoglobine, comporte 550 nucléotides, alors que 420 seulement jouent un rôle dans le codage. L'expérimentation *in vitro* confirme ces résultats : les gènes codant pour l'ARN ribosomique du foie de rat, par exemple, peuvent se répliquer en présence d'ADN polymérase d'*E. Coli,* et l'ADN obtenu est riche en A + T. Enfin, Guillé et Quétier estiment que leur schéma serait vérifié si l'on pouvait mettre en évidence une *usure ou une élimination* des tickets; or, en 1970, Dawid et ses collaborateurs ont constaté que, dans l'ovocyte d'Amphibien, le gabarit responsable de la formation d'ADN redondant comporte une série de *nucléotides méthylés* (Me—C, méthylcytosine). En outre, les variations des caractères physico-chimiques de l'ADN satellite (Salomon, 1969) peuvent être expliquées par une *méthylation plus ou moins importante de la cytosine* (Southern, 1970). Ainsi la méthylation augmente durant le développement embryonnaire (Denis, 1974). On peut alors penser que la méthylation provoque l'usure de tickets successifs, puis leur élimination juste avant la traduction. Quoi qu'il en soit, il est évident qu'il reste beaucoup à faire dans l'étude de l'hétérochromatine.

— Adaptation des acides nucléiques à des besoins fonctionnels particulièrement importants.

Dans certains cas, on peut constater que la cellule possède une quantité d'ADN « anormalement » élevée, indispensable à l'élaboration *rapide* de matériel ribosomique (donc protéique) : ainsi, lors de la *maturation des cellules sexuelles femelles.*

Voyons le cas de l'ovocyte d'Amphibien; l'ADN chromosomique manifeste une hyperactivité qui aboutit à la formation d'un ADN nucléaire extrachromosomique fortement amplifié. Il s'agit là de la *capsule hétérochromatinienne,* observée en microscopie optique, qui peut contenir 2 millions de gènes 28S et 18S; cette chromatine amplifiée est une copie de l'organisateur nucléolaire. L'ADN en excédent permet la formation de nombreux nucléoles et, par la suite, une très grande quantité d'ARNr s'accumule dans le cytoplasme, formant une réserve pour le reste du développement embryonnaire (Denis, 1974). Le cas de l'ovocyte des Insectes inférieurs est très voisin de celui des Amphibiens.

Un autre mode d'hypertrophie temporaire de l'ADN correspond à la formation de *chromosomes géants* ou *polytènes,* dans les cellules nourricières de l'ovocyte des Insectes supérieurs. Cette fois, l'ovocyte comporte un taux d'ADN normal, bien que, là encore, de très grandes quantités d'ARNr soient nécessaires pour provoquer sa maturation. En fait, ce sont les cellules nourricières qui lui fournissent l'ARN : chaque chromosome se divise un grand nombre de fois, les filaments d'ADN restant accolés sur toute leur longueur et formant un *faisceau* qui constitue le chromosome géant. La cellule nourricière est donc pourvue d'un très grand nombre de séquences codant pour les ARN : dès qu'ils sont formés, elle les « passe » à l'ovocyte qui est à son contact.

Des cas d'*amplification* des gènes codant pour les ARNr ont pu être montrés chez les Poissons. Par contre, cela ne se produit pas chez les Sauropsidés dont les œufs sont cependant très volumineux; les ARN sont fournis à l'ovocyte par de nombreuses cellules nourricières.

Si la cellule sexuelle femelle (ou ses cellules nourricières) peut souvent accumuler un ADN redondant

extrachromosomique, il apparaît que les *cellules somatiques* n'ont en général pas ce moyen d'adaptation, et cela même si leur activité est importante sur le plan de la synthèse protéique (cellules séricigènes du ver à soie, par exemple). Pourtant, il faut noter l'existence de cas de *polyténie* assez fréquents (glandes salivaires d'Insectes). Chez les Sciaridés (petits moucherons détritivores dont certaines espèces vivent dans les maisons), les glandes salivaires comprennent des chromosomes polyténiques sur lesquels on distingue des dilatations *(puffs)*. Elles contiennent un ADN synthétisé en excès et codant pour les ARN. Pourtant, si l'on ne trouve pas dans les cellules somatiques une grande abondance d'ADN redondant (amplifié), nous savons que chaque chromosome en particulier en comporte. Cela doit permettre à la cellule de s'adapter aux besoins de l'organisme. Ainsi, le niveau d'activité d'une enzyme dépend du *nombre* de copies génétiques permettant sa formation; de même, la quantité d'hémoglobine synthétisée par un globule rouge en croissance est programmée en fonction du nombre de molécules d'ARNm.

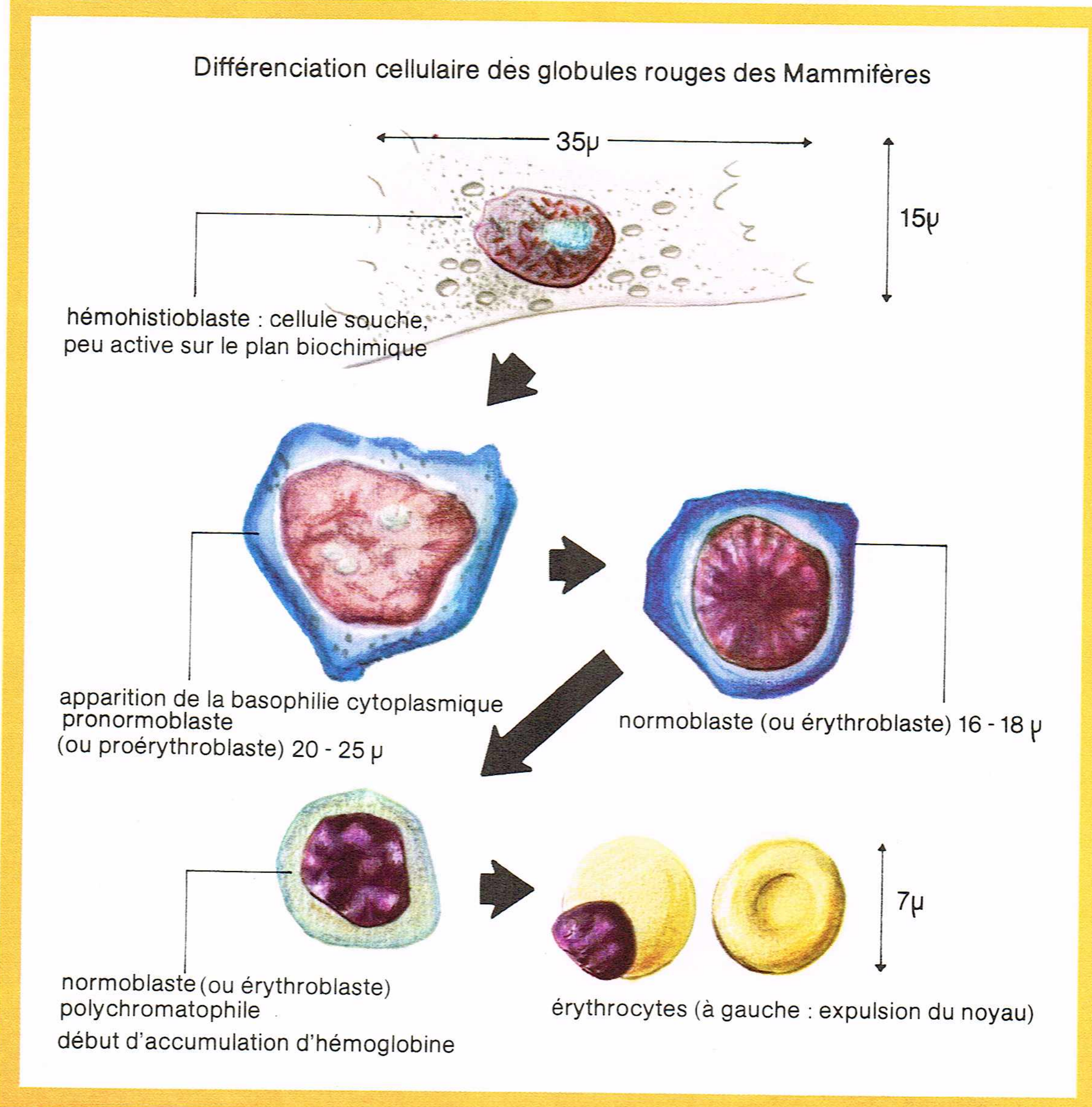
Guillé et Quétier (1970), Fantoni et ses collaborateurs (1972) ont montré que les groupes de gènesqui ont le plus grand nombre de séquences répétées sont également ceux dont l'expression génétique est la plus intense.

— *Comment le fonctionnement des acides nucléiques est-il déterminé ? Problème de la différenciation cellulaire.*

En décrivant les acides nucléiques, nous avons dit que certaines molécules, *extracellulaires ou non,* pouvaient induire ou bloquer l'activité de gènes de structure. L'existence de telles substances, effectuant un contrôle de l'activité génétique, n'est plus à démontrer, bien que leur nature soit loin d'être connue. Il s'agit là d'un problème essentiel puisque ces phénomènes sont à la base de la *différenciation cellulaire*.

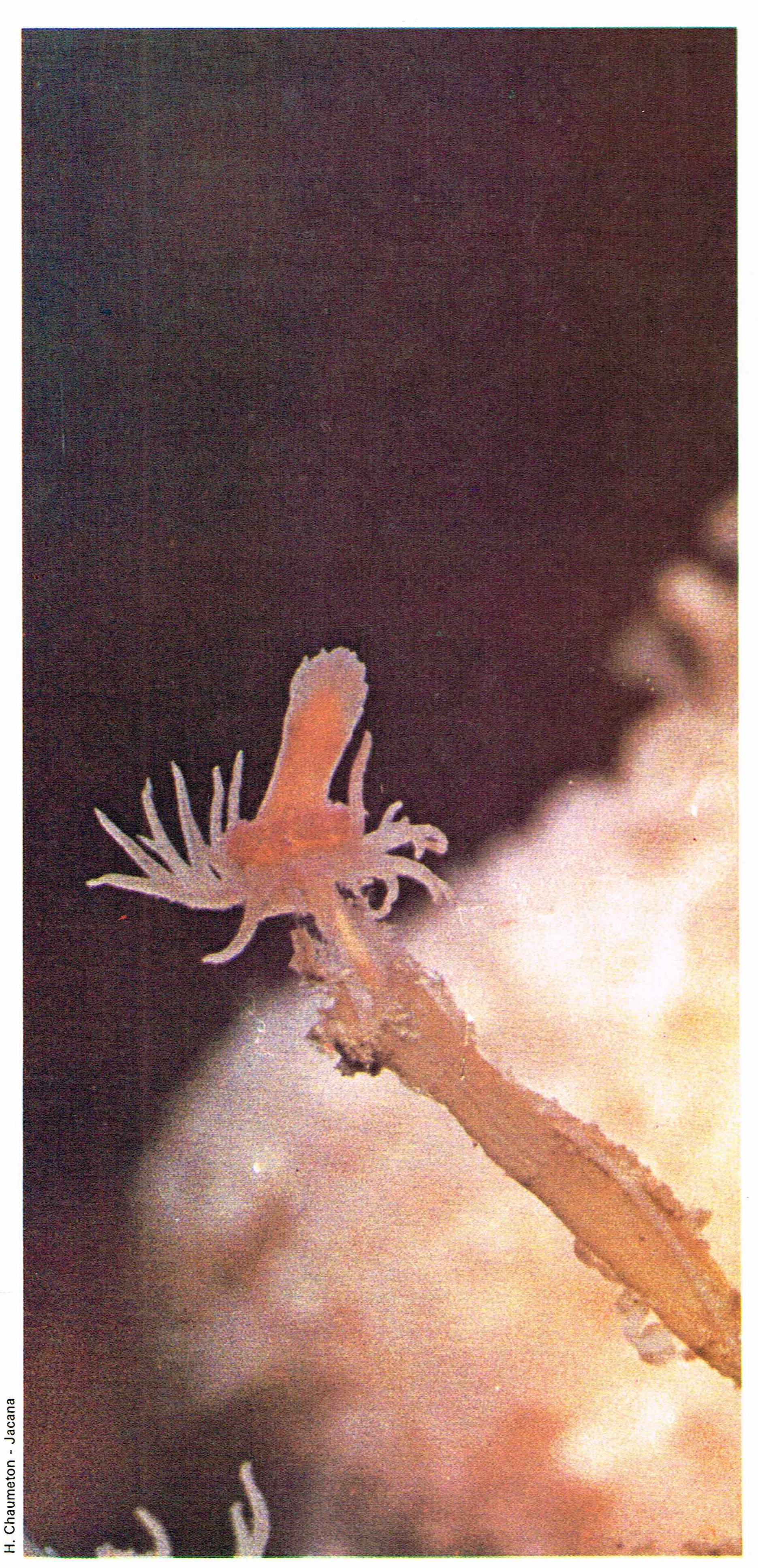
A partir d'une cellule indifférenciée, l'œuf, de nombreuses cellules vont se former qui s'engageront dans des voies très variées : chaque lignée cellulaire va posséder des caractères physiologiques et structuraux bien particuliers. Cette différenciation se produit *sans la moindre intervention du milieu qui entoure l'œuf* puis l'embryon. C'est donc dans l'œuf que sont contenus tous les renseignements qui permettront l'organogenèse. Dès la fin du siècle dernier, les premiers embryologistes pressentirent que le *cytoplasme* devait contenir des substances dont dépendait la différenciation des lignées. Mais leurs moyens d'investigations ne permettaient pas d'aller plus loin dans l'analyse.

Le problème de la différenciation peut être abordé à l'échelle de *l'organisme déjà constitué*, larvaire ou adulte. Ainsi, on peut constater que la différenciation d'une cellule est *modulée* (Bessis) par les conditions de son développement, autrement dit par les facteurs physiques et surtout chimiques que lui impose son environnement. Celui-ci est constitué par le contact et les sécrétions des cellules voisines; et le milieu extérieur à l'organisme n'est pas sans effets. Il fallut attendre les années 1950 pour que les premières idées précises sur la différenciation commençassent à prendre corps.



R. Colin

◀ ***Représentation schématique de la différenciation cellulaire** : ici, cas des globules rouges de Mammifère. Des exemples aussi nets sont, dans l'ensemble, très exceptionnels pour d'autres types cellulaires.*



H. Chaumeton - Jacana

Dès 1938, Barth avait effectué une observation intéressante : il coupait certains polypes d'Hydraires *(Tubularia)*, puis il associait deux fragments pourvus de tentacules. La régénération, très anormale bien sûr, s'effectuait de telle façon que l'une des « têtes » prenait, si l'on peut dire, le pas sur l'autre : la « tête » la plus active permettait la reconstitution d'un polype entier, au détriment de l'autre tête inhibée par des substances fabriquées par la première. On pouvait donc penser que l'activité génétique de la deuxième tête était déterminée par ces substances qui, lui faisant perdre ses caractères de « tête », lui en faisaient acquérir d'autres, ce qui permettait la reconstitution d'un polype sub-normal ou normal. Pour S. Meryl Rose, ce genre d'inhibition pourrait être rapproché des phénomènes qui s'observent chez des animaux sociaux tels que les termites, dont les sexués peuvent inhiber la maturation sexuelle des nouvelles nymphes (Ligh et Weesner, 1951) ; de même chez les abeilles et les fourmis, chez lesquelles il existe une « hormone sociale », découverte par Butler en 1954 et mise en évidence chez les reines, la phéromone.

Dans le cas de *Tubularia*, les substances permettant la modulation sont émises dans l'organisme et elles agissent sur des groupes de cellules, adjacentes ou non. Dans le cas des Insectes sociaux, l'inhibition des nymphes vient du milieu extérieur. Mais la différence ne semble pas être fondamentale.

D'autres expériences permirent une meilleure approche du problème de la croissance et de la différenciation. Braun, en 1952, cultivant un micro-organisme *(Brucella abortis)*, vit que celui-ci fabriquait et excrétait beaucoup d'alanine, ce qui freinait l'expansion de la culture. *A priori*, on peut voir là une simple intoxication par des produits de déchet; pourtant, à la fin de la croissance de la souche normale, il se formait *toujours* des variants, beaucoup moins sensibles à l'alanine. Un troisième type pouvait se développer lorsque la croissance de ces variants se ralentissait. On avait donc la preuve que quelque chose de *nouveau* était induit par les substances émises. Était-ce le mécanisme de base de la différenciation? La même année, Rose constatait un phénomène de même nature chez l'embryon, puisque le produit d'un gène A bloque le fonctionnement du gène A de cellules voisines, moins proliférantes ; ensuite ces cellules inhibées utilisent un gène B, jusque-là *masqué*.

C'est en 1963 que Mac Auslan put constater la *nature protéique des répresseurs* qui, en cultures de tissus, agissent sur les acides nucléiques; ses résultats sont d'une extrême importance (voir schéma).

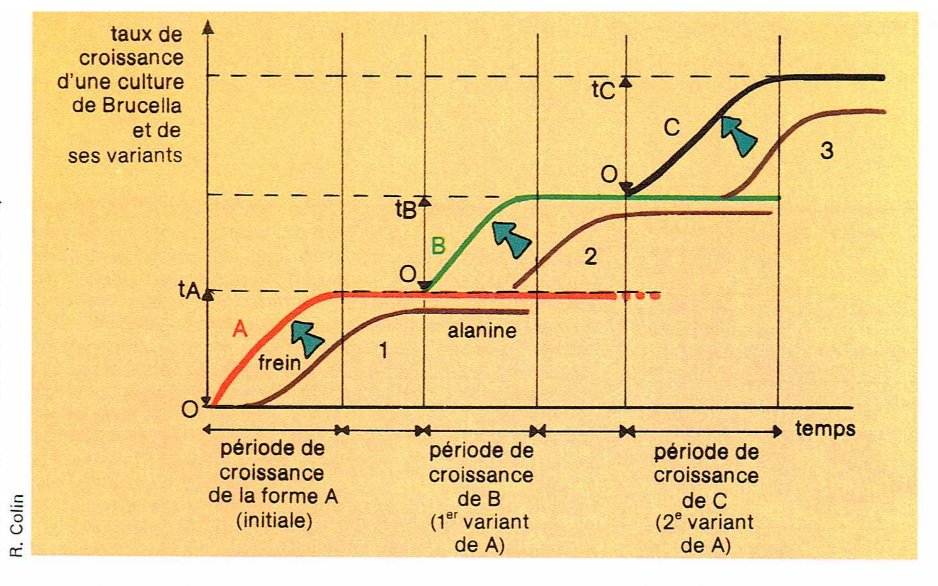
En fait, on peut *envisager qu'un gène soit successivement démasqué puis masqué (switch-on, switch-off)*. De toute évidence, le répresseur est protéique puisque la puromycine empêche totalement sa formation. Spirin, en 1966, a montré qu'il n'agit pas, en fait, sur le gène TK, mais sur son ARN messager, ce dernier ne pouvant plus se lier aux polysomes (il y a masquage au niveau de la traduction).

Le problème est, comme on le voit, complexe. La nature précise des molécules qui peuvent entraîner la répression des gènes ou l'inhibition des ARNm correspondants est encore presque totalement inconnue. A partir de 1950, les travaux de Stedman firent penser que des histones pouvaient agir comme des inhibiteurs spécifiques; bien des travaux ont effectivement montré que l'ADN débarrassé de ses histones permet, en milieu artificiel, une production accélérée de protéines (Allfrey, 1961 ; Mirsky et coll., 1963). De même, Bonner et ses collaborateurs (1963) ont montré que, chez le pois, les protéines associées à l'ADN empêchent la synthèse de globuline dans les bourgeons. Mais, en 1970, Ptashne et Gilbert en sont venus à penser que l'inhibition ne viendrait pas des histones mais plutôt des autres protéines et, en particulier, chez *E. coli*, des protéines acides associées à l'ADN.

De toute manière, l'étude de l'influence de facteurs chimiques sur l'expression génétique est compliquée par le fait que ces facteurs induisent généralement le *fonctionnement* des gènes et beaucoup moins souvent leur *orientation définitive*. Ainsi l'action des *hormones spécifiques d'un organe cible ;* Odartchenko note que les travaux sont multiples : Stockdale et Topper (1966), en particulier, ont tenté d'établir des relations entre le fonctionnement de l'ADN et la différenciation sous con-

trôle hormonal; mais il n'est pas encore possible de conclure « quant au mode d'action primaire de l'hormone ». La « différenciation » constatée au niveau de certaines cellules peut fort bien n'être qu'une série de phénomènes secondaires affectant des cellules qui, *auparavant*, sont déjà déterminées, prêtes à suivre telle ou telle ligne évolutive. Notons le cas de l'érythropoïétine, facteur stimulant la différenciation des globules rouges : le réveil de l'érythropoïèse s'effectue chez des cellules d'aspect fort « banal », *apparemment* très indifférenciées, mais où le degré de différenciation ne peut pas être déterminé, du moins avec les techniques actuelles. Les résultats sont de même nature avec les couples organes génitaux/œstrogènes ou androgènes, foie/hormone de croissance et foie/thyroxine, etc. Définir le degré d'engagement vers la différenciation est presque une gageure : l'exemple des cellules *maintenues en culture* le montre clairement. La plupart des cellules perdent assez rapidement leurs caractères quand elles sont mises en culture; pourtant, ces cellules, qui ont acquis un aspect et une activité biochimique de type « banal », demeurent encore très « orientées », comme on peut s'en rendre compte en les greffant ou en leur faisant subir divers traitements (Cahn, 1968). Coleman, par exemple, maintient différenciées des cellules cartilagineuses en traitant ses cultures par la thyroxine et en réduisant la tension d'oxygène. L'*état* différencié est un état « stable », et l'*aspect* indifférencié ne signifie rien de précis.

Trois types d'expériences vont nous permettre d'avancer un peu.

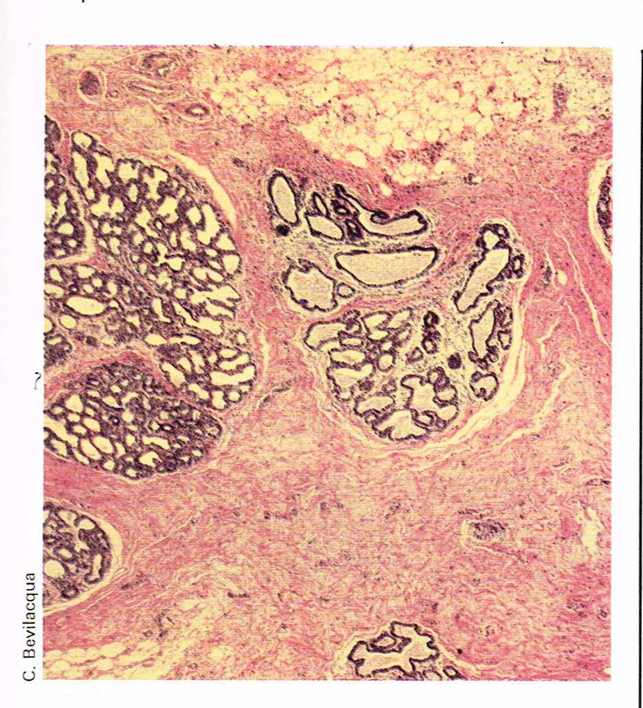


R. Colin

▲ *Représentation schématique des observations de Braun sur des cultures de* **Brucella** *: 1, 2 et 3 sont les substances émises par A, B puis C; chacune se révèle toxique en freinant la croissance des cultures de A, B puis C; mais B « pousse » en présence de 1, C de 2, etc.*

◄ *Page ci-contre, aspect de* **Tubularia**, *dont la couronne de tentacules est bien visible (Cœlentérés, Hydrozoaires, Hydraires).*

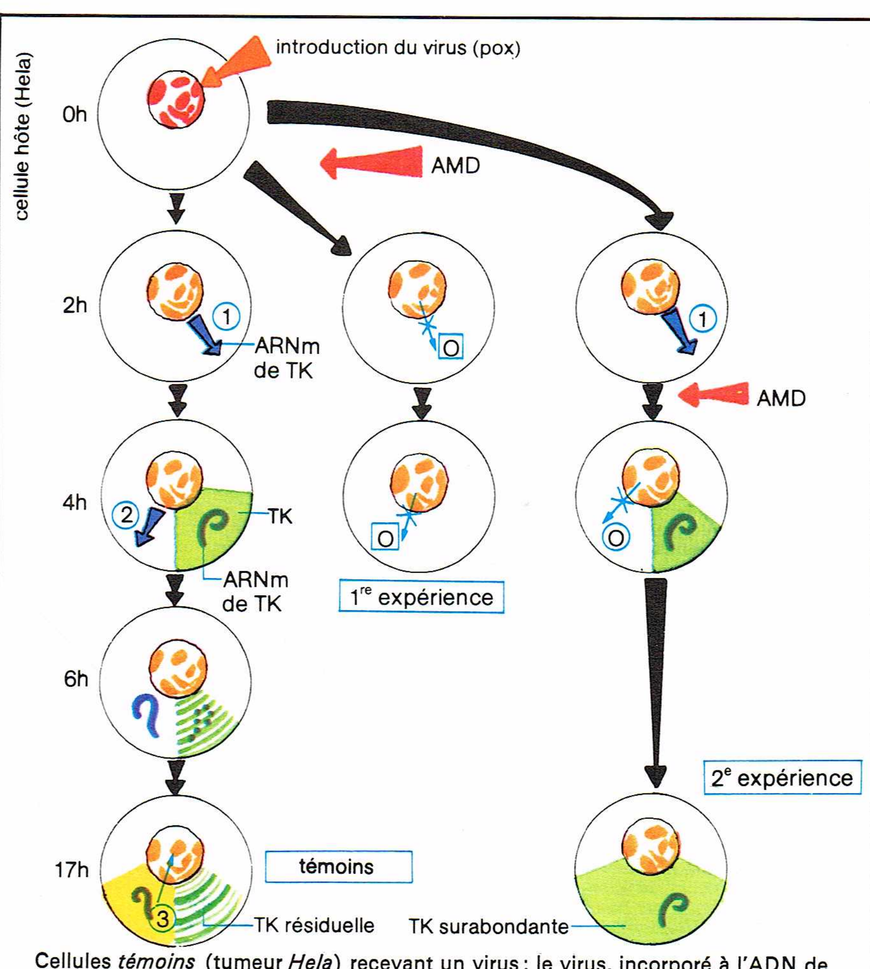
▼ *A gauche, la multiplication puis la différenciation des cellules sécrétrices de la glande mammaire sont déterminées par les hormones œstrogènes et progestatives. On voit ici une coupe de cette glande qui montre plusieurs îlots de cellules différenciées (coloration topographique). A droite, schéma des expériences de Mac Auslan : on notera que dans une cellule témoin infectée, il se forme à partir de la 4e heure un ARNm 2 codant pour une protéine 3 qui réprime, au niveau de l'ADN, la synthèse de l'ARNm 1 codant pour TK.*



C. Bevilacqua

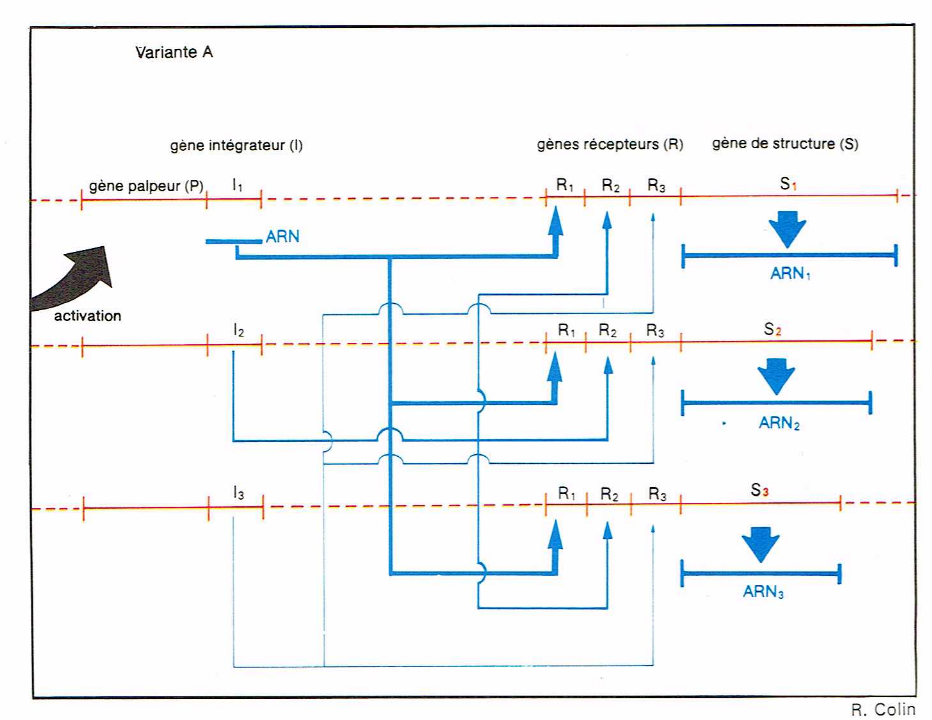
— Un cas d'induction d'enzyme a été assez étudié pour qu'il mérite d'être souligné (Denis, 1974). Il s'agit de la production expérimentale de *glutamine synthétase* par les cellules de la rétine de l'embryon de poulet. On peut en déclencher la fabrication précoce grâce à l'hydrocortisone, hormone qui démasque le gène responsable de la transcription de l'ARN messager codant pour la protéine enzymatique.

— Une autre induction, beaucoup plus spectaculaire, correspond chez les Vertébrés à la formation du système nerveux grâce à une excitation chimique venue de l'axe conjonctif sous-jacent. Mais la nature de « la » substance inductrice n'est pas connue avec certitude : la neuralisation s'obtient expérimentalement en soumettant le *territoire* nerveux (et non l'ébauche) à divers traitements chimiques. Certains pensent que l'inducteur serait protéique et que, dans ce cas, la fixation sur l'ADN pourrait être directe. Par contre, s'il s'agit d'une petite molécule, Denis envisage l'existence d'une réaction-relais : avant de se fixer, cette molécule se combinerait avec des protéines réceptrices; c'est ce qui se produit, par exemple, avant qu'une hormone, telle que la cortisone, se fixe

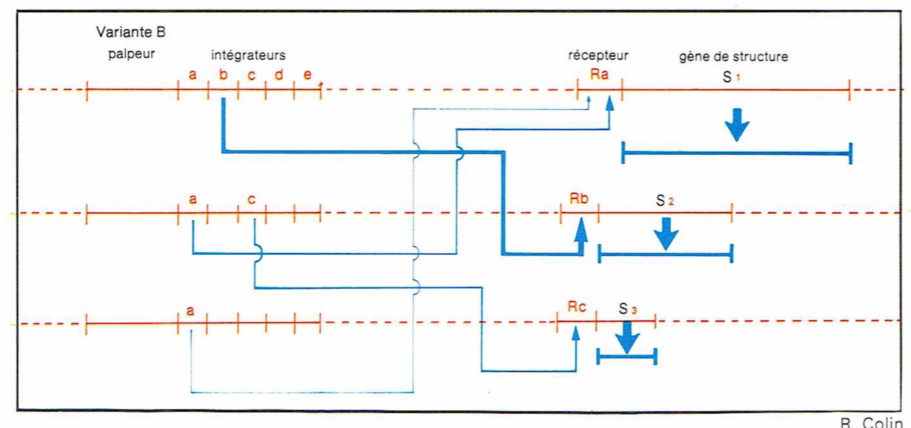


Cellules *témoins* (tumeur *Hela*) recevant un virus; le virus, incorporé à l'ADN de l'hôte, induit la synthèse d'ARN messagers, en particulier (1), qui code pour la *thymidine kinase TK* (en vert). TK est synthétisée pendant 6 h au maximum.
1re expérience : introduction d'actinomycine D (AMD) avant la 2e heure qui suit l'infestation virale → aucune synthèse de TK (l'ARNm correspondant n'est pas transcrit).
2e expérience : AMD ajoutée à la culture entre la 2e et la 4e heure → synthèse de TK; en effet son ARNm était déjà formé avant l'apport d'AMD.
Cette synthèse dure 17 h.

R. Colin



R. Colin



R. Colin

sur l'ADN (protéines allostériques). Ces hypothèses montrent que l'impact de la molécule inductrice *peut être direct,* ou nécessiter aussi la présence de *molécules protéiques intermédiaires spécifiques,* capables de reconnaître telle ou telle partie du génome. Les faits expérimentaux sont réduits, mais ils permettent d'envisager les mécanismes.

— Enfin, les effets que produit une hormone des Insectes, l'*ecdysone,* sont extrêmement évocateurs et *directement observables.* L'ecdysone, hormone de type stéroïde, sécrétée par une glande contenue dans le thorax et contrôlée par le « cerveau », est responsable de la métamorphose des Insectes (Wigglesworth, 1965). Si l'on administre de l'ecdysone à une larve âgée de chironome (Diptères), l'animal entreprend sa pupaison et, durant ce temps, on voit apparaître d'importantes modifications au niveau des chromosomes géants; on voit se développer ce que l'on appelle des *puffs* (des bouffées). Les puffs avaient été observés dès 1952 (Beerman) lors de l'évolution normale de divers Diptères : sur les chromosomes géants, ils apparaissent comme des épaississements, des hernies, bien visibles, très localisées et toujours transitoires. Ces puffs, qui incorporent l'uridine marquée, fabriquent donc de l'ARN; au niveau d'un puff, on peut estimer qu'un gène ou qu'un groupe de gènes sont en activité, *la localisation des puffs sur les chromosomes dépendant des organes* (peu de gènes fonctionnent ensemble sur un même chromosome). C'est en 1961 que Clever parvint à provoquer la formation de puffs chez la larve : l'action de l'ecdysone apparaissait donc clairement. On peut penser que les hormones des Insectes permettent une modulation de l'activité génétique, donc une réelle *différenciation par dérépression.* Chaque organe réagit de façon très spécifique vis-à-vis des hormones; ainsi, la maturation de la glande salivaire du chironome implique seulement la différenciation de quatre cellules sécrétrices et elle est sous la dépendance d'un seul puff chromosomique (Beermann, 1961). Bien des expériences effectuées avec la β-ecdysone ont confirmé que la différenciation cellulaire qui permet la formation de l'Insecte parfait est sous contrôle hormonal (Shrihari, 1974).

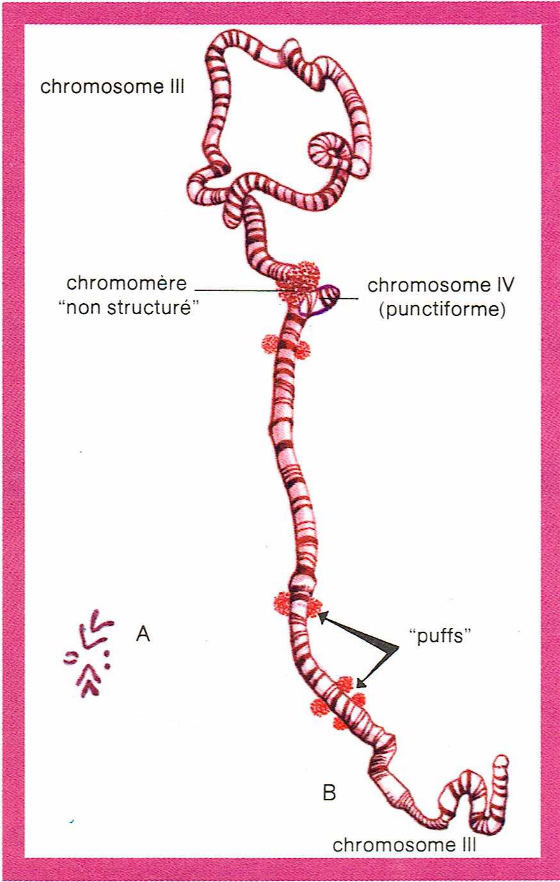
Le problème de la différenciation peut être aussi abordé en étudiant l'*œuf.* Cependant l'expérimentation et les interprétations sont généralement très délicates; on obtient depuis quelques années des résultats intéressants, bien que très insuffisants pour comprendre comment s'installe le mécanisme de *filtrage de l'information génétique.* L'œuf est certainement la cellule la plus complexe que

▲ *En haut,* **coordination de l'activité génétique** *(modèle de Britten et Davidson,* **variante A**) : *les trois éléments de l'ADN représentés sont situés, les uns par rapport aux autres, à des distances très variables sur la molécule. Noter qu'un même intégrateur (I₁ par exemple) peut activer plusieurs gènes de structure en agissant, par l'intermédiaire d'un ARN spécifique, sur un même récepteur associé à différents gènes S. En bas,* **variante B** : *l'ensemble palpeur-intégrateur, identique dans les trois cas, permet l'activation de plusieurs gènes de structure (selon Denis, la réalité biologique correspondrait à la combinaison des deux variantes).*



▶ **Chromosomes géants** *et puffs dans une cellule de glande salivaire de chironome (Diptère Nématocère) [contraste interférentiel].*

Nuridsany - Reichert



R. Colin

◀ ***Aspect de chromosomes polytènes de cellule de la glande salivaire de la drosophile (d'après Painter) : A, chromosomes ordinaires de drosophile; B, chromosomes salivaires polytènes (III et IV).***

l'on puisse imaginer. Elle contient, semble-t-il, tout le programme nécessaire pour le développement harmonieux de l'individu et, si « l'avenir est dans les œufs » (Ionesco), ce développement est bien loin d'être le même pour chacune des cellules qui en dérivent. On doit envisager plusieurs *modèles* pour tenter d'expliquer cette différenciation (qui peut être très précoce, c'est le cas des œufs « en mosaïque », ou bien relativement tardive, cas des œufs à régulation), que nous étudierons en embryologie.

Compte tenu de ce que l'on sait quant à la nature de la chromatine des Eucaryotes, il est intéressant de citer ici le modèle de Britten et Davidson (1969) qui permet d'avoir une idée des *systèmes de coordination*. Il fait appel à quatre types de gènes, dont le fonctionnement est étroitement lié. Ces gènes ou *groupes* de gènes seraient répartis en deux groupes essentiels : un groupe *palpeur et intégrateur* (P.I.) et un groupe *récepteur et structural* (R.S.). Les faits montrent qu'il n'y a pas de continuité topographique entre ces deux groupes. Par ailleurs, nous savons que l'activité d'un gène de structure (1) se manifeste en même temps que celle d'un ou de plusieurs autres gènes de structure différents (2), (3), etc. La synthèse de l'hémoglobine, par exemple, implique l'activité conjointe des gènes codant pour la chaîne α et pour la chaîne β, ainsi que des gènes codant pour les enzymes dont dépend la synthèse de l'hème. Or, les gènes qui gouvernent la formation des *deux* chaînes de la globine ne sont pas physiquement liés, contrairement à ce qui se produit pour les gènes ribosomiques 28S et 18S, disposés « en tandem ». Connaissant ces données, on peut alors comprendre l'importance du modèle évoqué (P.I.R.S.). Un gène palpeur, *activé par un effecteur* spécifique venu du cytoplasme, et peut-être même de l'extérieur de la cellule, induirait le fonctionnement d'un gène intégrateur adjacent; l'intégrateur produirait un ARN capable de déclencher, *à distance*, le fonctionnement d'un gène récepteur, lequel est à même d'entraîner la transcription du gène de structure qui lui est associé. On a donc là un système à fonctionnement horizontal. Cependant, l'ARN formé par l'intégrateur I pourrait agir sur *plusieurs* groupes R.S. Cette fois, le fonctionnement est vertical; un groupe P.I. déterminerait donc la formation de plusieurs ARNm codés par des gènes de structure très distincts.

La programmation peut être plus complexe : on envisage qu'il existe plusieurs groupes P.I. permettant l'activation de gènes de structure physiologiquement associés. De plus, il n'y aurait pas un, mais plusieurs gènes intégrateurs attachés à chacun des gènes palpeurs. On voit que l'activité de l'ensemble des gènes qui doivent coopérer pour produire une protéine histospécifique peut être modulée en fonction des effecteurs qui parviennent au contact de la chromatine. L'ensemble palpeur-intégrateur serait constitué par des séquences répétitives d'ADN.

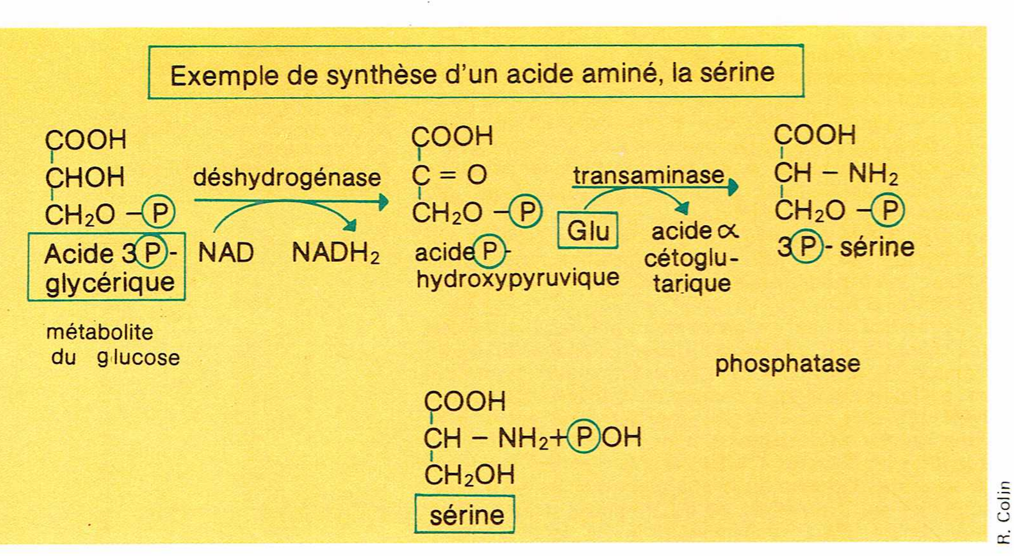
Ce modèle permet de comprendre pourquoi le D-ARN (ce symbole est dû au fait que l'hétérogénéité de sa structure le rapproche de l'ADN formateur) synthétisé par les jeunes embryons change continuellement (Denis, 1974). En effet, cet *ARN stocké ne serait pas entièrement constitué par des messagers*, mais comporterait alors des quantités importantes d'ARN capable d'activer les gènes de structure. On peut aussi envisager que les ARN messagers soient synthétisés en deux temps; dans un premier temps, c'est l'ensemble R.S. qui serait transcrit en totalité, ce qui produirait des D-ARN lourds, lesquels se fragmenteraient dans un deuxième temps pour libérer les messagers, nettement plus légers.

Il reste cependant des points à éclaircir. Ainsi, l'activation des gènes de structure dépend-elle *directement* d'une partie du D-ARN, ou bien celui-ci code-t-il pour une protéine qui, elle, s'adapterait sur les gènes récepteurs? Denis estime que cette dernière éventualité est douteuse puisque le D-ARN ne sort pas du noyau. Rappelons cependant que les ribosomes se constituent dans le noyau. Y sont-ils totalement inactifs? Si le D-ARN agit directement, il semble que cela soit dû aux nucléotides répétés; ainsi, en 1969, Melli et Bishop ont montré que l'hybridisation d'un ARN et d'un ADN de rat se fait essentiellement au niveau de fractions redondantes du génome (voir aussi Robertson et coll., 1969, et Koch et Cruceanu, 1971). Dans l'état actuel des connaissances, il semble difficile d'être plus précis. Tout compte fait, on n'a jamais très bien observé ce qui se passe *au contact* de la chromatine; les études biochimiques sont délicates, et le microscope électronique ne permet pas encore de débrouiller sa structure fine. On peut se demander quel est le rôle des protéines qui gainent les filaments de chromatine; les histones, peu variées, ne peuvent pas avoir une activité spécifique, mais en est-il de même des *protéines non histones?* Lostraba et Wang (1974) ont constaté que celles-ci contrôlent une partie de l'activité de l'ADN; Davis et coll., en 1972, ont pu montrer la diversité des protéines acides contenues dans la cellule; enfin, si, pour un même individu, les protéines nucléaires non histones sont sensiblement les mêmes dans les cellules de divers organes, certaines sont histospécifiques.

On le voit, un certain nombre de faits permettent d'avoir une idée de la façon dont s'effectue la différenciation cellulaire; toutefois, ce problème, un des plus cruciaux que l'on puisse envisager, n'est pas encore effectivement compris. Il règne une obscurité presque totale sur la façon dont les gènes palpeurs sont activés. Certes, on sait que les hormones et les inducteurs décelés chez l'embryon jouent un rôle fondamental; mais on doit envisager l'existence d'intermédiaires, en particulier de protéines, lesquels seraient les responsables immédiats de la différenciation. Ces intermédiaires sont vraisemblablement indispensables; ainsi, Kröger et Müller (1973) ont montré que divers ions pouvaient, comme des hormones, provoquer la formation de puffs chez le chironome; or, rien ne permet de penser que le sodium ou le magnésium puissent agir directement sur des sites particuliers du génome.

— *Le milieu ambiant de l'individu peut entraîner des aberrations des acides nucléiques et de leur fonctionnement.*

Nagl et Rücker (1972) ont montré que des régulateurs de croissance introduits dans un milieu où sont cultivées des cellules de *Cymbidium* (orchidée australienne) provoquent une polyténie des chromosomes et une amplification de l'hétérochromatine. Ces résultats, très symptomatiques, montrent ainsi que le milieu peut



R. Colin

▲ *Exemple de synthèse d'un acide aminé : la* **sérine.**

modifier considérablement la quantité d'ADN et, en particulier, celle de l'*hétérochromatine*. En fait, si l'on modifie expérimentalement le taux d'hétérochromatine, aussi bien chez le maïs que chez la drosophile ou la souris, l'activité de la cellule s'en trouve considérablement perturbée; cela prouve que les contrôles s'effectuent au niveau de l'ADN redondant (Mac Clintock, 1967; Hamerton, 1968; Green, 1968; etc.), les séquences de nucléotides répétés jouant le rôle de signaux de déclenchement (initiation) ou d'arrêt de synthèse (terminaison). Ces expériences pourraient être raffinées en tenant compte du modèle moléculaire quantitatif de Guillé et Quétier.

Enfin, il apparaît que l'hétérochromatine est *particulièrement sensible* vis-à-vis de nombreux agents : les antimétabolites, les analogues, les carcinogènes et les virus (Huang, 1967; Évans, 1967). Cette fragilité entraîne des cassures, des aberrations des chromosomes, qui peuvent subir des délétions, des translocations ou des amplifications. Il semble possible que des conditions de milieu, drastiques ou non, entraînent des transformations plus ou moins considérables du génome, transformations souvent létales pour la cellule, mais pas obligatoirement. Il est tentant de voir là un des modes de transformation des espèces; par ailleurs, l'hétérochromatine, point faible de la cellule, pourrait être à la base de l'évolution tumorale.

Les modes de synthèse au niveau du cytoplasme et le devenir des produits élaborés

Nous partons des acides nucléiques.

— *Synthèses et accumulation dans le hyaloplasme.*

Les ribosomes qui parviennent dans le hyaloplasme participent aux synthèses protéiques en association avec les ARNt et les ARN messagers venus également du noyau. La cellule contient un stock plus ou moins important de ribosomes libres, encore inactifs. Groupés sur un brin d'ARNm, ils deviennent fonctionnels et permettent l'assemblage des acides aminés entraînés par les ARNt. Ces acides aminés peuvent être d'origine *exogène* ou *endogène*. Dans le premier cas, ils sont drainés par le milieu extracellulaire nourricier, puis absorbés. Dans le second, leur biosynthèse se fait à partir d'autres acides aminés et de métabolites des glucides. Chez l'homme, des acides aminés sont synthétisables : le glycocolle (à partir de la sérine), la cystéine, la tyrosine (par oxydation de phénylalanine) et la proline. Les autres, par contre, doivent être apportés à la cellule *(acides aminés essentiels)*. La nature de ces derniers peut être différente suivant l'espèce considérée (les Bactéries ont des pouvoirs de synthèse plus vastes, de même que les Champignons et les autres végétaux).

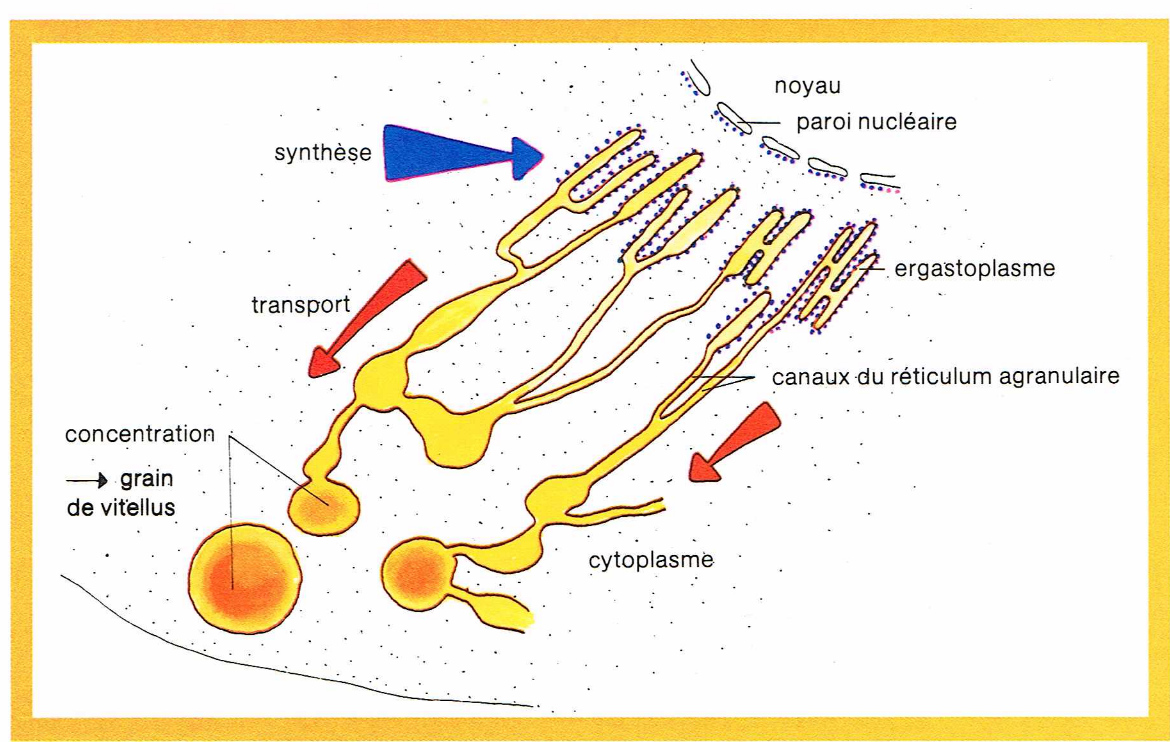
Les protéines fabriquées « par » les polysomes sont dispersées dans le hyaloplasme. Il s'agit soit de protéines de structure, soit d'enzymes. Dans le premier cas, elles forment le fond, la trame du hyaloplasme ainsi que les constituants filamenteux et microtubulaires; de plus, certaines d'entre elles participent à l'édification des systèmes membranaires lipoprotéiques. Dans le second cas, les enzymes peuvent être dispersées ou bien incorporées à des éléments figurés; leur rôle est de favoriser la synthèse des molécules les plus diverses.

— *Synthèse et accumulation au niveau des systèmes cavitaires.*

Les ribosomes peuvent aussi se disposer à la surface des membranes du réticulum endoplasmique. Dans ce cas, associés à des ARN messagers, ils participent à la synthèse de protéines, en particulier enzymatiques, dont le devenir est très différent puisqu'elles pénètrent *dans* le réticulum (rét. granulaire, ou REG). Ces protéines seront souvent utilisées de façons différentes.

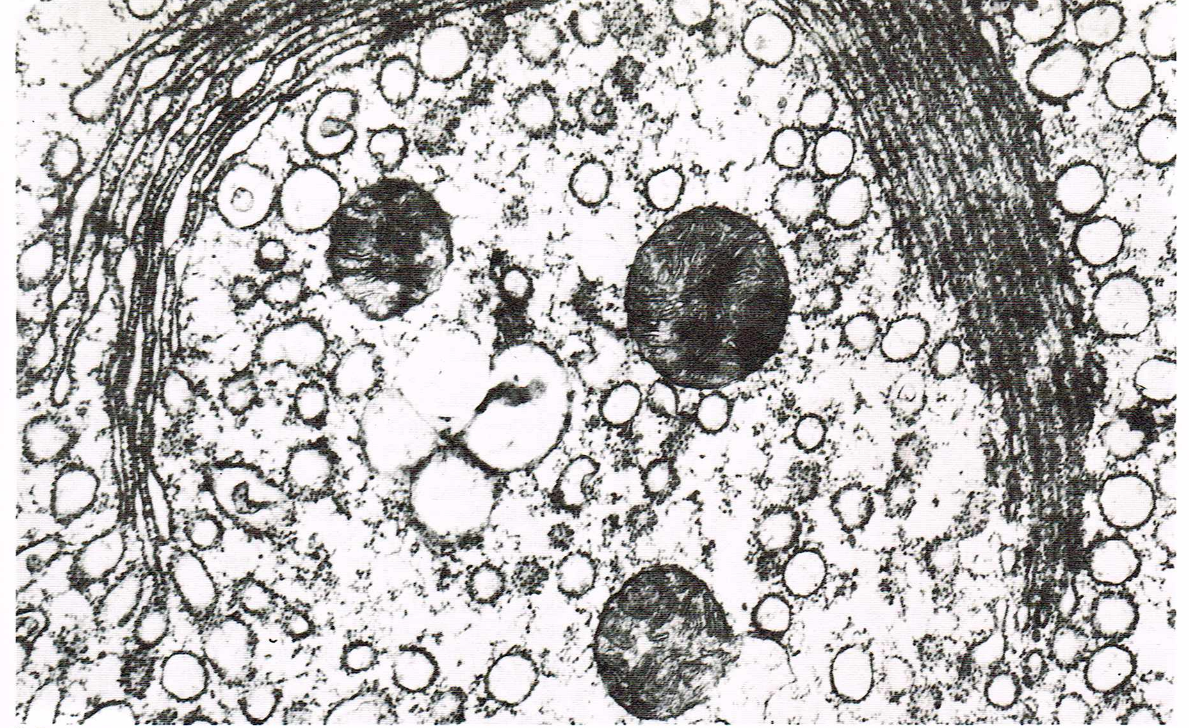
● *Accumulation dans le réticulum.*

Les protéines peuvent demeurer dans le réticulum et y constituer des *réserves*. C'est, notamment, le cas dans l'ovocyte de l'écrevisse : les protéines se condensent et forment des *grains de vitellus,* réserves complexes



R. Colin

▶ *Rôle schématique du* **réticulum endoplasmique** *(écrevisse) dans la synthèse et l'accumulation du vitellus (d'après Favard).*



C. Bouchard

◀ *Microscopie électronique montrant l'abondance du* **réticulum granulaire** *(ergastoplasme) dans un ovocyte d'ascidie. Les lames d'ergastoplasme, qui, localement, possèdent une structure de* **lamelles annelées** *(en haut), bourgeonnent un très grand nombre de* **vésicules** *chargées de produits synthétisés.*

qui seront utilisées par l'embryon; les phospho-lipo-protéines sont abondantes dans le vitellus de bien des espèces animales. Chez les végétaux, le principe d'accumulation est le même : les vacuoles, d'origine réticulaire, se fragmentent, concentrent leur contenu pour constituer les *grains d'aleurone,* où les protéines forment un globoïde, voire un cristalloïde chez certaines graines (Poux, 1962). De la même manière, les *anti-corps* des plasmocytes que l'on trouve chez les Vertébrés supérieurs s'accumulent dans le réticulum et peuvent y constituer des structures paracristallines (Thiéry, 1965).

Bien souvent, l'accumulation de matériel protéique se fait en réalité dans le réticulum lisse (REL). Il peut y avoir des communications entre les deux types de cavités réticulaires (ovocytes) ou bien transformation du REG. Il y aurait donc une évolution du système réticulaire, avec dégranulation. Mais celle-ci n'implique pas que le réticulum devienne inactif : ce système membranaire lisse comporte en effet des enzymes dont les fonctions varient avec le type de cellule. Elles peuvent ainsi entraîner la *synthèse de substances nouvelles, non protéiques,* ce qui correspond, par exemple, à la formation des hormones stéroïdes; on assiste alors à une hypertrophie et à une accumulation considérable du réticulum lisse (Fawcett, 1963). Par ailleurs, le réticulum lisse peut *modifier* les produits fabriqués au niveau granulaire. Enfin, ce système membranaire peut *émettre des vésicules,* qui se dispersent alors dans le hyaloplasme. Un exemple caractéristique : certains auteurs ont constaté que, dans les cellules hépatiques et nerveuses du rat, des vésicules se détachent du réticulum lisse et constituent ce que l'on nomme *corps denses d'accumulation enzymatique* (Novikoff et coll., 1962-1963). On y trouve essentiellement de la *phosphatase « acide »* (action à pH voisin de 5) ou phosphomonoestérase, puissant agent d'hydrolyse de glucides phosphorés.

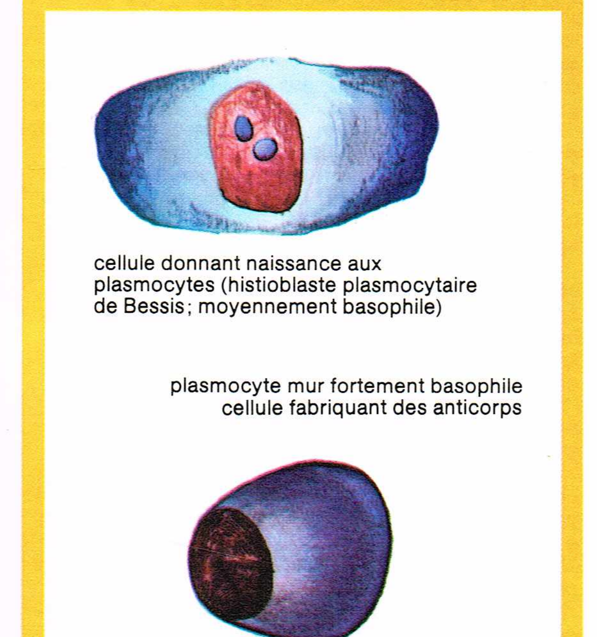
● *Transferts golgiens.*

Une partie des protéines et des substances contenues dans les cavités réticulaires passent dans les saccules golgiens. Cette formulation est d'ailleurs inexacte puisque les saccules golgiens naissent à partir du système réticulaire endoplasmique : il y a migration d'éléments réticulaires, qui bourgeonnent sur le réticulum (Ovtracht et coll., 1973), puis se soudent pour former les cavités aplaties et discoïdales, appelées saccules golgiens. Cependant, il existe une communication latérale directe entre certains éléments du réticulum lisse et des saccules déjà formés; il s'agit de tubules qui sont soudés au bord des disques sacculaires et que l'on nomme *boulevards périphériques.* Autrement dit, les substances qui sont formées dans le réticulum peuvent entrer par deux voies dans le système golgien afin de s'y concentrer et, éventuellement, d'y subir des modifications. Ces modifications sont entraînées par les enzymes qui sont contenues dans les parois des saccules « mûrs ». Les faces immature et mature des dictyosomes n'ont pas la même activité.

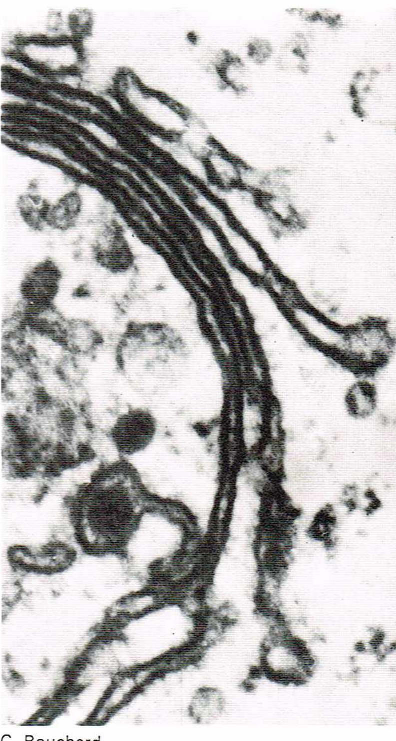
Schématiquement, le complexe golgien donne naissance à deux types de produits; les *produits d'accumulation,* destinés à l'usage de la cellule elle-même, et les *produits de sécrétion,* qui seront expulsés dans le milieu ambiant.

■ Les *produits d'accumulation* sont entraînés au sein du hyaloplasme dans de petites vésicules qui, semble-t-il, naissent par fragmentation de saccules golgiens situés à la face interne, concave, du dictyosome. Ces vésicules golgiennes constituent des *lysosomes primaires;* en effet, elles contiennent diverses hydrolases, peut-être plus ou moins modifiées par rapport aux produits du réticulum endoplasmique (Hourdry, 1968). Ces hydrolases vont servir à l'alimentation de la cellule, ainsi que nous le verrons un peu plus loin; en 1963, on en connaissait une quinzaine (de Duve), et maintenant quarante. La cathepsine et la collagénase sont spécialisées dans l'attaque de protéines; les nucléases digèrent des acides nucléiques; l'α glucosidase fragmente le glycogène; la β glucuronidase, la β galactosidase, l'α mannosidase, l'arylsulfatase, etc., s'attaquent aux mucopolysaccharides et à leurs dérivés; enfin, la *phosphatase acide* agit sur les esters phosphatés (revue de Hourdry, 1968). Cette dernière enzyme, très caractéristique des lysosomes, peut être fort bien mise en évidence au microscope optique (Gomori, 1952). Point important : on ne trouve jamais de lipase dans les lysosomes. Les lysosomes sont des éléments cellulaires universellement répandus (de Duve, 1963-1974).

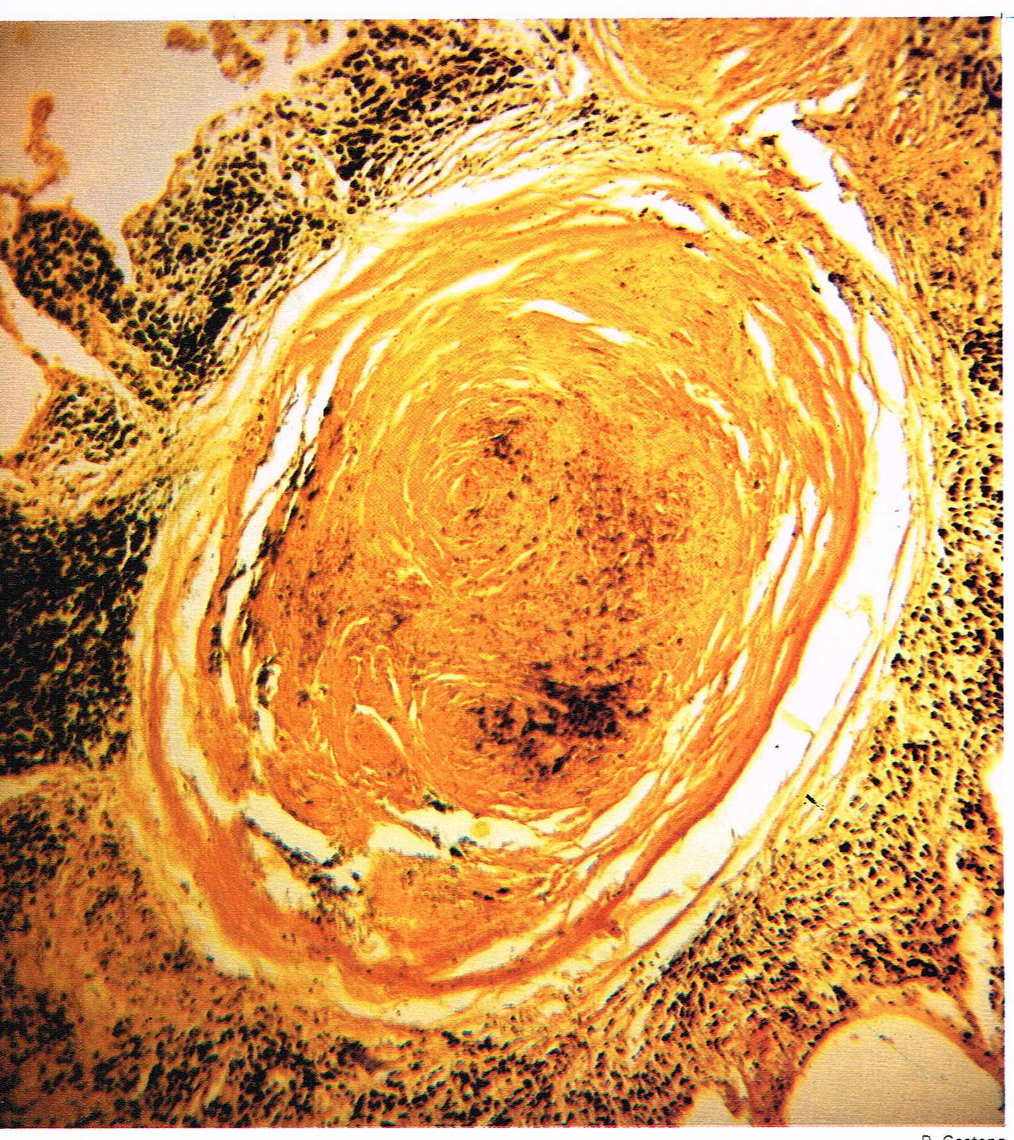
▼◀ *A gauche, différenciation des* **plasmocytes** . *A droite, dans une* **vésicule golgienne** *(d'une cellule de tube digestif d'ascidie en microscopie électronique), prête à se détacher, on voit se former un* **granule** *dense aux électrons.*



R. Colin



C. Bouchard



P. Castano

▲ ***L'absorption de silice par des cellules pulmonaires peut entraîner leur dégénérescence ; cette accumulation se fait souvent sur une grande échelle, ce qui provoque, dans le poumon, la formation de nodules dégénérés et fibreux dont l'élimination est impossible (coloration topographique).***

Nous allons étudier maintenant le mode de fonctionnement des lysosomes primaires. Cela va nous entraîner assez loin, car ces éléments cellulaires ne sont pas les seuls qui contiennent des hydrolases. On appelle également lysosomes les *vacuoles digestives,* les *vacuoles autolytiques* et les *corps résiduels.*

L'hétérophagie

La pinocytose et la phagocytose entraînent la formation de vacuoles, de taille diverse, entourées par un fragment du plasmalemme. Ces vacuoles sont encore appelées *phagosomes* par Straus (1963) et de Duve (1963).

Les petites vacuoles de pinocytose fusionnent pour donner des phagosomes de taille variable ; on en trouve dans de nombreux types de cellules animales : les cellules rénales absorbent ainsi des protéines (l'hémoglobine par exemple) dans des conditions expérimentales ou pathologiques (Miller et Palade, 1964). On a observé un phénomène de même nature dans le rein, le foie, l'intestin et certaines cellules sanguines (Straus, 1961 à 1967). L'*endocytose est sélective.* Quant aux vacuoles de phagocytose, elles peuvent contenir des Bactéries ou des virus, des débris de cellules voisines ou même des cellules entières et plus ou moins dégénérées. Après ces processus d'endocytose, les phagosomes se chargent en hydrolases ; cette charge enzymatique vient de lysosomes primaires ou de corps denses (réticulaires) qui ont *fusionné* avec les phagosomes. Autrement dit, les enzymes qui sont déversées dans les phagosomes viennent aussi bien du réticulum endoplasmique que du Golgi, les modalités étant différentes suivant le type de cellule que l'on étudie (Wetzel et coll., 1965 ; Hugon et Borgers, 1966).

Cependant, il n'y a pas dans la cellule que des vésicules golgiennes (ou lysosomes primaires) et des corps denses. On décrit aussi des *cytosomes,* dont l'origine est variable et qui constituent une variété de grands lysosomes présents dans le muscle cardiaque et dans certaines cellules macrophages pulmonaires ; des *coated vesicles* trouvées par Friend et Farquhar, en 1967, dans les canaux déférents du rat, sont aussi des lysosomes : ces vésicules, de petite taille et chargées d'enzymes, naissent à partir de saccules golgiens, comme les lysosomes primaires, mais leur membrane est extérieurement tapissée par une couche de particules à disposition radiaire (leurs caractères physiologiques ne sont guère connus) ; enfin, les *granules des macrophages et des polynucléaires* du sang sont formés par des protéines enzymatiques, dont l'activité phosphatasique est vigoureuse (Cohn et Hirsoh, 1960 ; Cohn et Wiener, 1963 ; Seeman et Palade, 1967). Tous ces éléments cytoplasmiques sont entourés d'une membrane de type unitaire. L'importance de celle-ci est absolument primordiale, compte tenu du grand pouvoir lysant des enzymes qui y sont enfermées. Parfois cette membrane peut céder, et la cellule en meurt. Tous ces éléments possèdent le même pouvoir : celui de fusionner avec des vacuoles d'endocytose et d'y déverser leurs enzymes. Les phagosomes deviennent alors des *phagolysosomes,* ou *lysosomes secondaires,* petits estomacs qui digèrent une grande partie du matériel englouti. Les produits d'hydrolyse sont ensuite absorbés par le hyaloplasme périphérique, devenant ainsi directement utilisables pour les biosynthèses. Pourtant, certaines molécules contenues dans le phagolysosome ne sont pas totalement digérées, si bien que la vacuole se charge en *matériel dense,* souvent finement granuleux et, dans bien des cas, les lipides qui ne sont pas attaqués s'accumulent, formant des couches, des lamelles très serrées ; on les décrit sous le nom de *figures myéliniques :* en effet, les lipides s'y organisent un peu comme dans les gaines de myéline du système nerveux des Vertébrés (Behnke, 1963). Ainsi, dans les cellules où l'endocytose est un phénomène physiologique essentiel, répondant à leurs besoins nutritionnels ou permettant l'élimination de cellules nécrosées et de particules indésirables, de nature diverse, les déchets non utilisables sont accumulés dans des corps résiduels, qui, chez la plupart des animaux, persistent indéfiniment. Une telle accumulation est de règle, par exemple, dans les cellules « rénales » des ascidies : les déchets azotés finissent par cristalliser dans les vacuoles lysosomiales. Chez les animaux, l'existence de corps résiduels nombreux est un signe de vieillissement ; petit à petit, la congestion de la cellule finit par être préjudiciable à celle-ci. Cela est particulièrement grave dans le cas où elle accumule des éléments cristallins pouvant perforer la membrane du corps résiduel : des hydrolases sont alors libérées dans le cytoplasme et entraînent sa dégradation ; c'est le cas des cristaux de silice qui sont absorbés par certaines cellules du poumon (silicose) ou des cristaux d'urate de sodium qui se forment au niveau des articulations chez les goutteux. La membrane des lysosomes secondaires peut être également rompue par certaines Bactéries ; ainsi, le streptocoque peut envahir la cellule qui l'a phagocyté, libérant des toxines qui agissent conjointement avec les hydrolases.

Chez les animaux inférieurs et, par ailleurs, dans des cas particuliers où la cellule dispose « d'un émonctoire naturel » (cellules hépatiques accolées à un canalicule biliaire), les corps résiduels peuvent être éliminés dans le milieu, ce qui n'entraîne aucun préjudice pour l'organisme.

Cette endocytose inverse, ou *exocytose,* est considérée par de Duve (1974) comme une « défécation cellulaire ». Un tel mécanisme est assez exceptionnel.

On voit bien quel est le rôle des produits réticulo-endoplasmiques plus ou moins modifiés et concentrés par les corps de Golgi, mais qui demeurent normalement à l'intérieur de la cellule, sauf dans des cas particuliers. L'un de ceux-ci mérite d'être souligné : la cellule peut parfois produire des lysosomes destinés à une *digestion extracellulaire* extrêmement circonscrite ; ainsi, les *ostéoclastes,* qui sont chargés des remaniements osseux, libèrent des hydrolases qui dissolvent les structures, les travées anciennes, préparant ainsi un espace dans lequel des ostéoblastes viendront fabriquer de l'os neuf.

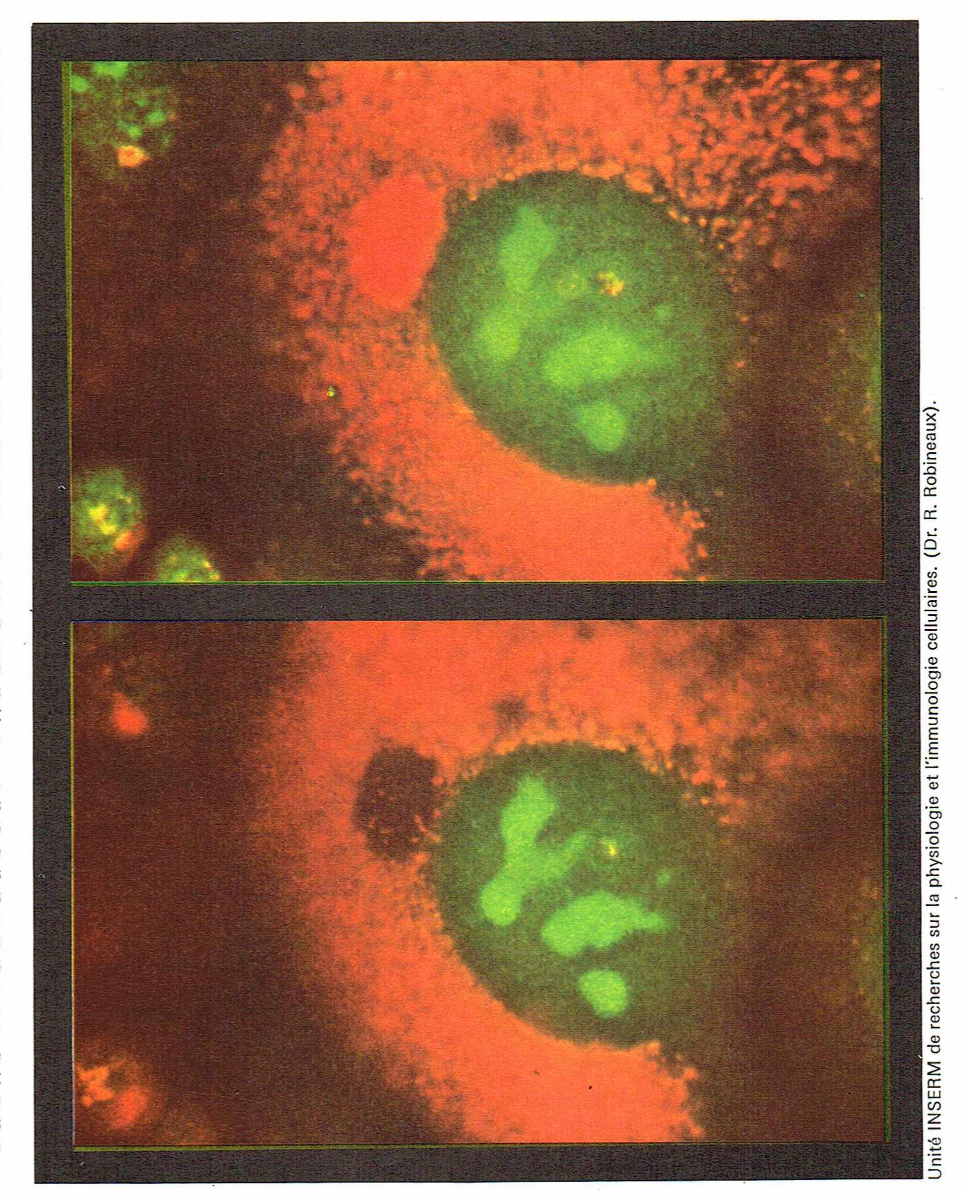
L'autophagie.

L'activité des hydrolases lysosomiales peut se manifester de manière fort différente : il ne s'agit plus d'une digestion de matériel capté hors de la cellule, mais de la dégradation d'une partie du cytoplasme de la cellule elle-même. Ce phénomène, appelé *autophagie,* se produit dans des circonstances diverses. Il s'agit souvent d'une adaptation à des conditions anormales : le *jeûne* et des *remaniements tissulaires* constituent des situations très favorables à son déroulement.

Dans le cas du jeûne, la cellule ne reçoit pas la part de nourriture qui lui serait nécessaire et, pour « satisfaire sa faim », consomme une partie de son propre cytoplasme. Il peut s'agir seulement de la digestion d'une mitochondrie (Novikoff et Essner, 1962), mais la cellule s'attaque généralement à un ensemble hétérogène d'organites et de grains de sécrétion (Hourdry, 1968). Voici comment le drame se noue : il se forme une vacuole autophagique limitée par une membrane de type unitaire ou même par deux membranes concentriques qui englobent et ségrègent une partie du cytoplasme *(cytolysome)*. Jusqu'en 1965, on pensait que cette membrane se formait *de novo* (Ashford et Porter, 1962; Policard, 1965). Mais on estime maintenant qu'une telle origine est exceptionnelle (Napolitano, en 1963, a décrit l'exemple des cellules adipeuses, pauvres en matériel membranaire). En fait, les vacuoles autolytiques peuvent se former à partir de membranes golgiennes ou réticulaires. En 1965, Brandes et Bertini ont envisagé l'hypothèse que les cytolysomes dérivent de saccules golgiens, ce qui fut confirmé en 1968 par Frank et Christensen. Par ailleurs, des éléments du réticulum peuvent s'enrouler, isolant ainsi un volume de cytoplasme assez important (travaux de Novikoff et coll., et Beaulaton, 1967); les éléments ségrégés sont alors entourés par un sac très aplati, ce qui explique l'existence de la double membrane évoquée plus haut. L'origine des hydrolases, qui sont alors détectées dans les vacuoles autophagiques, a été beaucoup discutée par les auteurs que nous venons de citer. Certains estiment, preuves à l'appui, que des lysosomes primaires seraient incorporés à ces vacuoles; d'autres pensent que des saccules golgiens peuvent introduire leurs enzymes dans la portion de cytoplasme qu'ils entourent; un phénomène de même nature se produirait à partir du réticulum (Beaulaton y a décelé une forte activité initiale durant la formation de la vacuole). En fait, les modalités sont vraisemblablement différentes suivant les types cellulaires et les conditions du milieu. De Duve insiste sur l'importance des lysosomes primaires dans la formation des enzymes des vacuoles autophagiques (1974).

Quoi qu'il en soit, comme dans le cas d'hétérophagie, les produits de la digestion traversent ensuite la membrane de la vacuole et sont introduits dans les cycles de synthèse. L'autophagie est un processus qui permet à une cellule soumise à des restrictions de survivre en économisant sur l'ensemble de ses activités physiologiques. L'autophagie entraîne la formation de *corps résiduels* contenant souvent des *corps myéliniques,* et, en conséquence, la sénescence de la cellule est accélérée. Les carences alimentaires sont donc à la base d'un vieillissement cellulaire, qui, chez les Vertébrés, est très généralement irréversible; il n'en est pas de même pour les Protozoaires, chez qui les corps résiduels sont éliminés dans le milieu. Ces carences sont, évidemment, particulièrement dangereuses pour les individus dont l'organisme est en pleine croissance, qu'il s'agisse de jeunes animaux ou d'enfants.

L'autophagie se produit aussi de façon très frappante durant des *remaniements tissulaires impliquant une certaine dédifférenciation*. Après une blessure, bien des tissus se transforment à tel point que, localement, de nombreuses cellules jouxtant le niveau de lésion perdent leurs caractères particuliers (cas de cellules musculaires, E. Hay, 1959). La dédifférenciation morphologique est une conséquence de l'atrophie de certains organites préexistants et même d'une élimination de ces organites par autophagie. Ainsi, chez certaines espèces d'ascidies, l'ablation de l'ovaire entraîne une dédifférenciation des cellules qui constituent l'extrémité de l'oviducte resté en place; ces cellules perdent notamment leurs cils; des éléments basaux sont alors inclus dans des vésicules autophagiques, avant d'être progressivement



Unité INSERM de recherches sur la physiologie et l'immunologie cellulaires. (Dr. R. Robineaux).

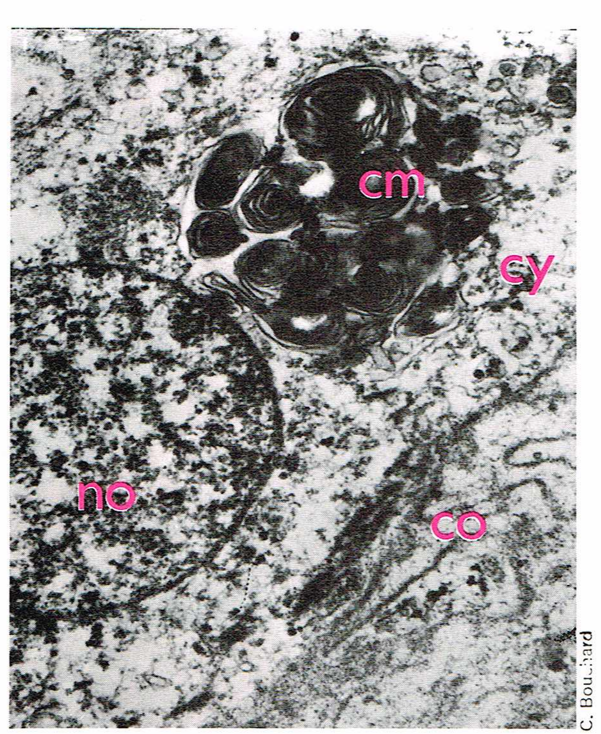
▲ Lysosomes *mis en évidence, dans une cellule vivante, par un fluorochrome : l'acridine* orange. *Le document du haut montre une vacuole noire au-dessus du noyau coloré en vert; le document du bas montre la même vacuole, après fusion des lysosomes avec elle, colorée de ce fait en orange. C'est une image typique* d'autophagolysome.



F. Treilhou

◀ *Détection d'une* activité phosphatasique acide *au niveau des* lysosomes *(ly) de cellules thyroïdiennes (souris). Trois portions de cellules sont visibles sur cette microphotographie électronique.*

▶ *A gauche,* **corps myélinique** *(CM) observé dans une volumineuse vacuole autophagique de l'épithélium de l'oviducte d'ascidie : no, noyau; cy, cytoplasme; co, conjonctif (microscope électronique). A droite,* **vacuoles autolytiques** *de l'épithélium intestinal d'Amphibien durant la métamorphose : 1, deux mitochondries et un peu de cytoplasme sont ségrégés dans une petite vacuole à double membrane, 2, dans cette vacuole, la digestion des organites ségrégés est déjà avancée (microscopie électronique).*





digérés. A partir de ces cellules, il se reforme un ovaire. Cette nouvelle différenciation dépend de facteurs neurohormonaux (C. Bouchard, 1966).

Selon Hruban et ses collaborateurs (1963), les produits libérés par les vacuoles autolytiques interviendraient dans la morphogenèse et la différenciation. L'étude des phénomènes de cicatrisation et de régénération doit permettre d'approfondir notre connaissance des activités lysosomiales.

L'autophagie peut être observée dans des *organismes intoxiqués* par des agents chimiques ou physiques. Ainsi, les rayons X en provoquent l'apparition au niveau des cellules intestinales (Hugon et Borgers, 1965-1966). En agissant sur le catabolisme ou sur les biosynthèses, divers produits chimiques peuvent entraîner la dégradation locale du cytoplasme, en particulier au niveau du foie, organe extrêmement sensible car il participe à une foule de réactions fondamentales (comme le disait A. Lacassagne, les hépatocytes sont « hautement spécialisés dans des fonctions multiples »). Les premières observations précises de ce phénomène ont été effectuées par Hruban et ses collaborateurs ainsi que par Ashford, Porter et Novikoff entre 1962 et 1963. Si l'action des substances cancérigènes n'est pas encore bien connue, on a toutefois constaté que les hydrocarbures qui provoquent des tumeurs de la peau se trouvent rapidement concentrés dans des lysosomes secondaires.

▶ *Mise en évidence d'une* **activité phosphatasique acide** *dans l'appareil de* **Golgi** *; cellule pancréatique d'Amphibien. Les saccules golgiens se détachent en noir sur le fond gris du cytoplasme. Noter la réaction noire au niveau de petits* **lysosomes** *et de* **lysosomes secondaires** *contenant des éléments déjà partiellement digérés.*



Tous les phénomènes de dégénérescence tissulaire normale, cyclique ou non, s'accompagnent d'autophagie. Chez les Insectes, le moment de la métamorphose est crucial : la formation de tissus nouveaux est immédiatement précédée d'une lyse de tissus « larvaires ». Rasch et Gawlik (1964) ont observé l'autophagie chez les Diptères, et d'autres auteurs l'ont mise en évidence dans différents groupes (chez les Lépidoptères, les Blattidés, etc.).

Chez les Vertébrés, il en est de même à divers stades de l'élaboration des organes (Behnke, 1963), des populations cellulaires nouvelles tendant à remplacer celles du jeune embryon. Durant la métamorphose des Amphibiens, les réactions des cellules constituant les organes larvaires sont de même nature que chez les Insectes (Hourdry, 1969-1973).

Des observations intéressantes ont été faites chez les Mammifères. Ainsi, *après la lactation,* certaines cellules antéhypophysaires contiennent des vacuoles autophagiques; en effet, leur rôle lactagogue est terminé (Smith et Farquhar, 1965). Les cycles sexuels, en particulier le *cycle œstrien,* entraînent des réactions autophagiques au niveau des cellules en involution. On observe des phénomènes très frappants dans le cas extrême des cellules de la prostate des animaux *castrés* (Swift et Hruban, 1964). Ces exemples montrent que l'autophagie ne permet pas toujours la survie des cellules qui se trouvent dans de mauvaises conditions métaboliques; si ces conditions sont nettement défavorables, l'autophagie aboutit à une sorte de suicide. Une partie des produits de dégradation est ensuite utilisée par les cellules voisines, en croissance plus ou moins active; en somme, ce suicide se pratique dans l'intérêt collectif.

Il ne faut pas penser que l'autophagie est un phénomène très exceptionnel ou bien seulement périodique; elle est, semble-t-il, fréquente dans des conditions normales. Ces foyers d'autolyse physiologique sont responsables d'une partie du *turn-over (renouvellement)* de la matière vivante. Ericson et ses collaborateurs (1965) estiment que l'autophagie est le processus normal de dégradation des mitochondries usagées; mais bien sûr, les phénomènes sont alors très discrets.

— *Synthèses au niveau des systèmes cavitaires et sécrétion des produits.*

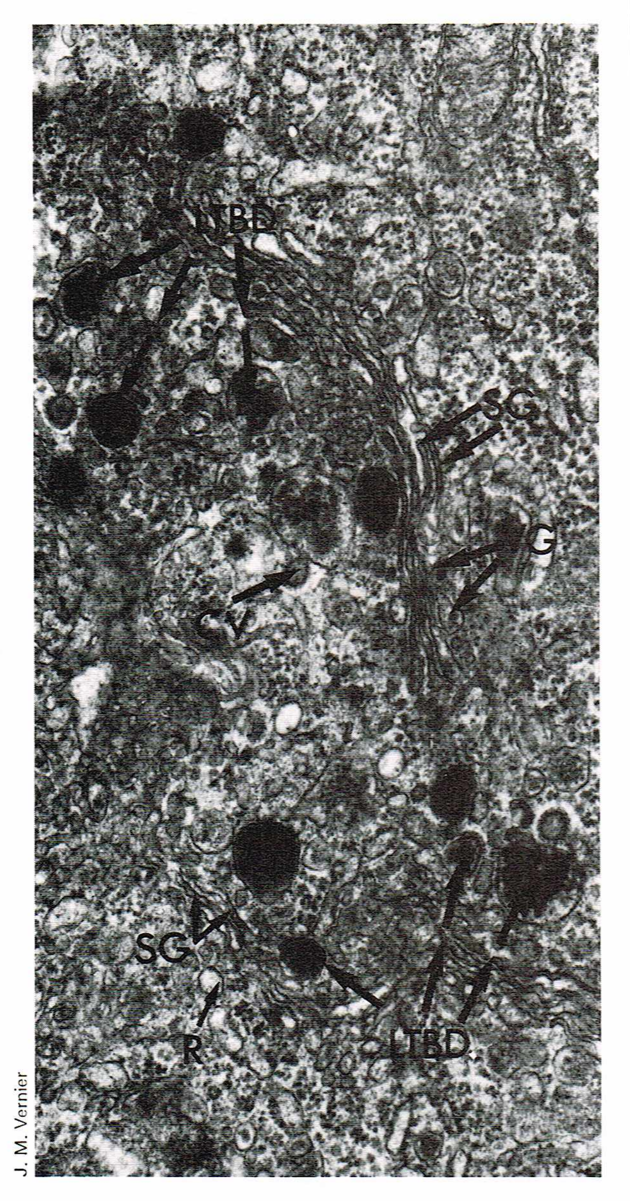
Une partie du matériel protéique élaboré au niveau du réticulum endoplasmique granulaire (ergastoplasme) peut être ultérieurement rejetée à l'extérieur de la cellule : il s'agit alors d'une *sécrétion.* Mais il serait faux de penser que, seul, l'ergastoplasme intervient dans les synthèses de sécrétions. Essayons, dans un exposé forcément schématique, de voir les faits.

● *Devenir des produits de l'ergastoplasme*. Avant de sortir de la cellule, ces produits peuvent suivre deux voies.

■ *Migration directe,* sans transit par les saccules golgiens.

Ce mode de migration peut être démontré pour certains types de lipoprotéines, les VLDL (very low density lipoproteins; $d < 1{,}006$) ou LTBD (lipoprotéines de très basse densité). Leur existence avait été décelée dans le foie de Mammifères par Jones et ses collaborateurs, ainsi que par Stein en 1967. Ces molécules ont une importance fondamentale puisqu'elles fournissent des triglycérides endogènes; la cellule intestinale synthétise aussi des LTBD. En fait, le foie et l'intestin fabriquent 90 % des triglycérides que l'on trouve dans le sang (De Pury et Collins, 1972); le rôle du foie est, de loin, le plus important (Canedella, 1974).

Les équipes d'Ovtracht (1970), puis de Morré (1971), ont mis en évidence la formation de LTBD au niveau de l'ergastoplasme, puis leur migration dans les *boulevards périphériques,* système de tubules issus du réticulum agranulaire et qui enserre l'appareil golgien. La maturation du produit s'effectuerait dans le boulevard périphérique, puis dans les vésicules de sécrétion émises après un bref contact avec le bord latéral des saccules golgiens... On voit que le mécanisme est subtil ! Ovtracht, Morré, Cheetham et Mollenhauer (1973) ont pu constater, en isolant des fractions, boulevard périphérique, saccules golgiens, etc., que les enzymes contenues dans les tubules du boulevard en font une unité particulière, aussi distincte du réticulum que des saccules golgiens. Après formation des granules de sécrétion, les phénomènes de maturation se poursuivent; Vernier a

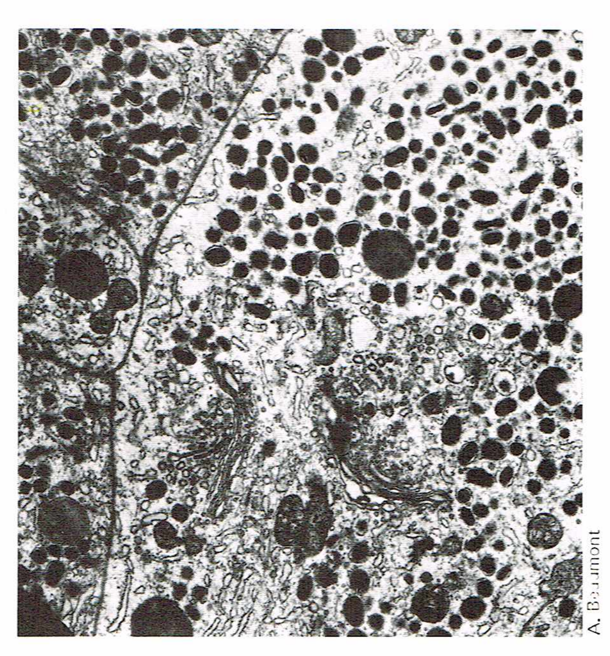


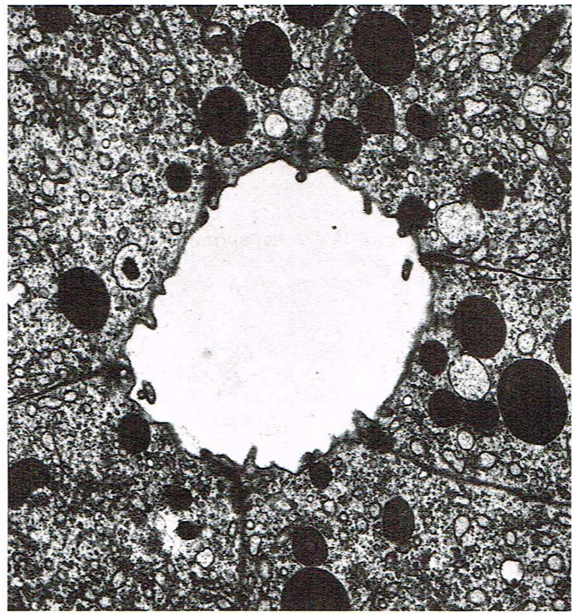
polysome
→ synthèse de protéines libérées dans le hyaloplasme
noyau
réticulum granulaire
nucléole
→ synthèse de protéines de structure ou d'enzymes
double membrane nucléaire
réticulum agranulaire → stéroïdes ou enzymes (corps denses) ou rôle dans l'activité golgienne
boulevard périphérique (agranulaire)
produits complexes (protéines LTBD)
tubule du GERL
grain de sécrétion protéique ou lipoprotéine s
sécrétion
appareil de Golgi
corps dense
migration des lysosomes primaires (ou des corps denses)
expulsion exocytose
vacuole digestive (hétérophagie) ou phagosome dans lequel se déversent des lysosomes
vacuole autolytique (autophagie) où se déversent des lysosomes primaires (rouges)
corps myéliniques dans un lysosome
phagosome
micropinocytose
expulsion des déchets indigestes (défécation)
phagocytose (ou macrophagie) hétérophagie
endocytose
Richard Colin

▲ *Représentation schématique des activités* **au niveau du cytoplasme;** ***noter que le boulevard périphérique et le GERL sont seulement visibles dans des cas favorables.***

◀ ***Élaboration des*** **lipoprotéines de très basse densité** ***dans une cellule hépatique (truite) : R, éléments du réticulum endoplasmique; SG, saccules golgiens; VG, vésicules golgiennes contenant des granules synthétisés dans le réticulum; LTBD, lipoprotéines accumulées dans les vésicules golgiennes hypertrophiées; CV, « coated vesicles », qui, formées par le Golgi, viennent s'accoler, puis se déverser dans les vésicules de sécrétion (microscopie électronique).***

▶ *A gauche,* **vésicules sécrétrices** *de cellules pancréatiques endocrines (cellules A à grains), à glucagon(Amphibien). Les vésicules de sécrétion, très denses aux électrons, sont extrêmement nombreuses; elles se forment sur les bords des dictyosomes; on voit ici deux systèmes golgiens. A droite,* **grains de zymozène** *dans des cellules de pancréas exocrine* **(Rana temporaria)** *; certains de ces grains sont sur le point d'être expulsés (microscopies électroniques).*

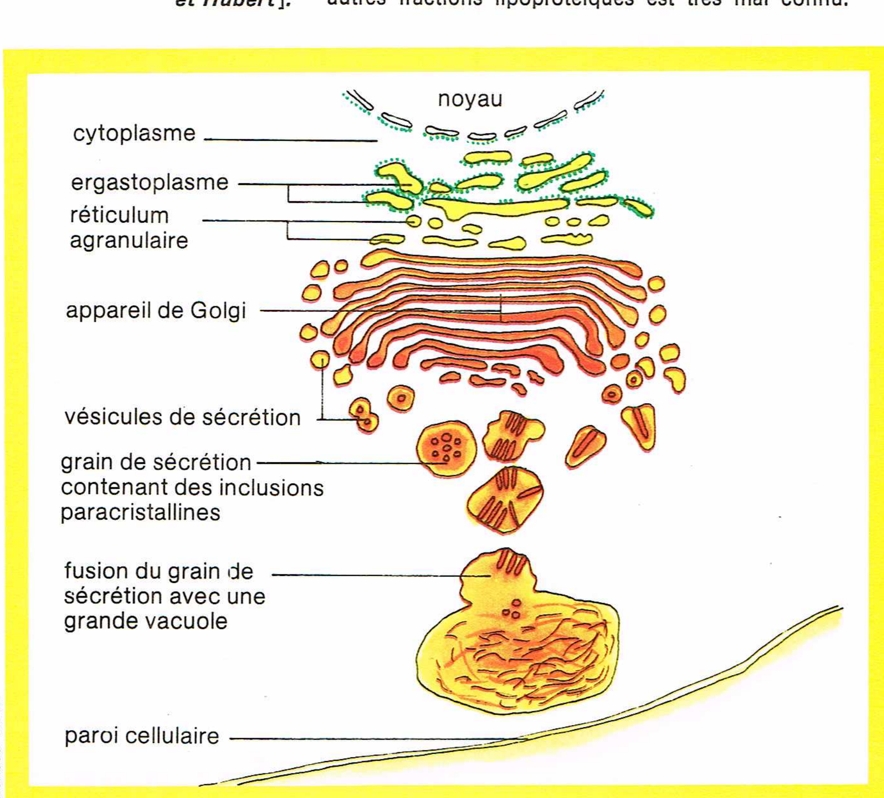

A. Beaumont


A. Beaumont

▶ *Page ci-contre, en bas, coupe histologique d'œsophage d'Amphibien (coloration topographique) sur laquelle on observera la* **sécrétion de mucopolysaccharides,** *ou mucoprotéines, drainée vers l'un des pôles cellulaires puis accumulée au voisinage de la lumière du tube digestif.*

▼ *Représentation schématique de la* **sécrétion de protéines cuticulaires** *chez un Crustacé Décapode* **(Palaemon)** *[d'après Chassard, Bouchaud et Hubert].*

montré (1974) que, chez la truite, les « coated vesicles » venues de la face concave du corps de Golgi se soudent aux vésicules de sécrétion observées dans le foie. L'hypothèse de Morré, selon laquelle la synthèse des LTBD se ferait suivant un processus à étapes multiples, avec addition successive de lipides, de stérols et de polysaccharides sur le composant protéique initial (apoprotéine), est, actuellement, partiellement vérifiée. La sécrétion est le produit de plusieurs sites cytoplasmiques : sécrétion initiale au niveau de l'ergastoplasme, maturation dans le boulevard périphérique et au sein des vésicules de sécrétion, dans lesquelles se déverse, au moins dans *certains cas,* le contenu de nombreuses « coated vesicles » d'origine golgienne. On doit envisager, par ailleurs, que les produits élaborés au sein du hyaloplasme participent à l'une des étapes du processus, voire à plusieurs : il leur suffit, pour cela, de traverser l'un des systèmes membranaires... On le voit, l'étude des LTBD est à peine commencée. Notons que le mode de synthèse des autres fractions lipoprotéiques est très mal connu.



Richard Colin

■ *Migration à travers le système sacculaire golgien.* Un exemple très typique, et en même temps historique, nous est fourni par le travail fondamental de Caro, Palade et Siekievitz (1962-1964) sur la synthèse de la sécrétion *pancréatique exocrine* chez le cobaye. L'injection d'acides aminés marqués (LEU—^{3}H par exemple) montre que l'incorporation est maximale au bout de cinq minutes dans les cavités de l'ergastoplasme, lieu d'accumulation des protéines formées au contact des ribosomes. Vingt minutes après l'injection, la radioactivité est maximale dans les saccules golgiens mais elle persiste encore dans les cavités ergastoplasmiques jouxtant les saccules golgiens proximaux (immatures). Après une heure, toute la radioactivité se trouve concentrée dans les vésicules golgiennes, éliminées trois heures plus tard par exocytose. La sécrétion, ou grain de zymogène, est restée emballée dans les systèmes membranaires ; ceci rappelle ce que nous avons vu dans le cas des lysosomes : dans un cas comme dans l'autre, le produit constitué, *à forte activité enzymatique,* ne doit pas avoir de contact avec le hyaloplasme. C'est un caractère que l'on trouve aussi dans les autres cellules sécrétrices, alors même que le produit n'a pas d'activité lysante ; mais, dans tous les cas, la membrane vésiculaire évite la dispersion dans le cytoplasme du matériel sécrété (Jamieson et Palade, 1967).

Outre la formation des grains de sécrétion enzymatiques, l'ergastoplasme participe à la synthèse de divers produits qui sont concentrés, puis modifiés dans le complexe golgien. Des protéines de structure se forment de cette manière : *collagène* du tissu conjonctif ; *protéines cuticulaires* des Crustacés par exemple. Dans le cas du tissu conjonctif, Green et Goldberg (1965) ont décrit la formation *in situ* des fibres collagènes. De leur côté, Hay et Dodson ont obtenu de très belles images de sécrétions de tissus en culture et constaté en particulier que la structure périodique caractéristique du collagène apparaît bien avant l'expulsion du matériel synthétisé : le collagène natif est transporté vers l'extérieur dans des vésicules oblongues, qui s'allongent, tandis que les fibrilles s'édifient. Diegelmann et Peterkofsky (1972) ont montré que la migration des vésicules golgiennes vers l'extérieur dépend de systèmes de microtubules et, par conséquent, de la contractilité de protéines associées ; en effet, la colchicine et la vinblastine, alcaloïdes antagonistes des microtubules, n'empêchent pas la synthèse de collagène marqué à la proline ^{14}C, mais l'expulsion de cette sécrétion devient impossible. Enfin, Chassard, Bouchaud et Hubert (1973) ont pu mettre en évidence, au niveau du tégument d'une crevette *(Palaemon),* une sécrétion de protéines cuticulaires, dépendant directement du cycle des mues. Des observations de ce genre sont toutefois assez peu nombreuses, et l'on est mal informé sur les mécanismes précis qui permettent la formation des structures protéiques extracellulaires.

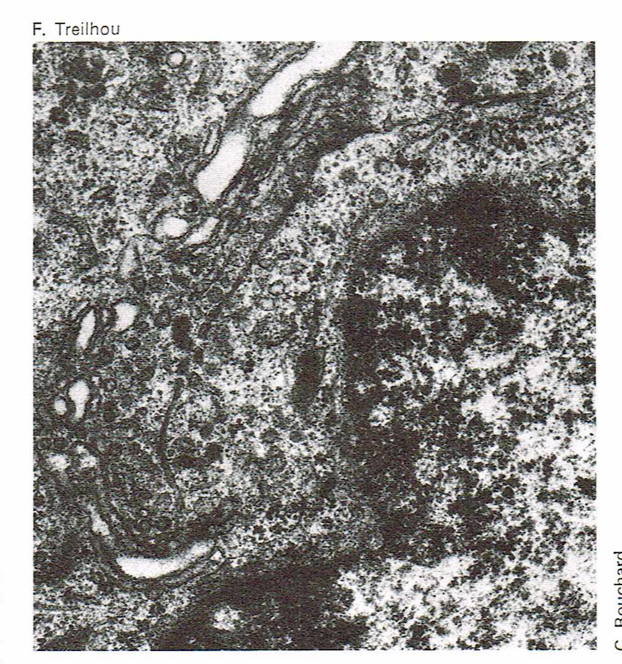
Chez les végétaux, bien que ce phénomène soit relativement rare, certains produits peuvent être sécrétés d'une manière semblable. Le matériel synthétisé peut être organisé très précocement dans le Golgi. Ainsi, Manton a montré que les saccules golgiens des cellules épidermiques d'Algues contiennent déjà des écailles, qui s'agrandissent progressivement et qui sont par la suite apposées à l'extérieur du plasmalemme (1966 et 1967).

On peut rapprocher de ce type de synthèses celle des *mucoprotéines,* souvent abondantes à la surface d'un épithélium (côlon : Leblond et coll. 1966, ainsi que Thiéry, 1969) ou, qui, plus généralement, constituent le *cell-coat,* ou *glycocalix.* Grâce à l'autoradiographie, Young a montré que le soufre, nécessaire à la synthèse de nombreuses mucoprotéines, est rapidement incorporé par l'appareil de Golgi de divers types cellulaires (1973). Boisseau a méticuleusement étudié la formation des mucoprotéines dans l'épithélium de l'oviducte (1973). Les images qu'il a obtenues au microscope électronique, en utilisant l'oviducte d'un Amphibien *(Pleurodeles),* permettent de se faire une idée excellente de ce qui se passe au niveau golgien, puis lors de la concentration du produit de sécrétion. Les vésicules de sécrétion s'accolent et fusionnent pour donner des *vacuoles de concentration* dont le contenu est très dense, puis les produits de la sécrétion sont expulsés à la surface du plasmalemme qui est alors tapissé d'un coat fort important. La concentration qui précède l'expulsion serait due à des phénomènes de transport actif au niveau de la membrane des vésicules (Whetsell et Bunge, 1969). De plus, il y a enrichissement en *glucides,* comme le montre la méthode spécifique de Thiéry (1967), qui permet de mettre en évidence les polysaccharides. Ils se forment dans les saccules golgiens et s'accumulent progressivement dans les saccules distaux ; leur combinaison avec les protéines forme la sécrétion mucoprotéique. L'auteur souligne la complexité de structure des saccules distaux et celle du mode de formation des microvésicules de sécrétion qui se détachent latéralement ou qui naissent par fragmentation (« fenestration » des saccules). Ajoutons que Novikoff, Essner et Quintana (1964) décrivent dans la concavité du complexe golgien ce qu'ils appellent le GERL, système dont l'individualité n'est pas évidente pour bien des types cellulaires. *Le GERL serait une région spécialisée de l'ergastoplasme, contenant de la phosphatase acide, située à la face concave du Golgi et pouvant former des lysosomes* (Novikoff, 1972). Ainsi, dans le cas de l'oviducte de triton, Boisseau envisage que le GERL puisse intervenir dans l'activité sécrétoire. Quoi qu'il en soit, son matériel cellulaire permet de percevoir, de manière exceptionnellement nette, comment s'effectue la synthèse des protéines puis des mucoprotéines qui en dérivent lors du transit golgien.

La glycocalix est en perpétuel renouvellement comme l'a démontré, en particulier, Rambourg (1971). Durant le développement d'un organe, les propriétés chimiques de la glycocalix varient en fonction de la différenciation des cellules qui la constituent (second travail de Boisseau, 1973).

Le rôle que joue la glycocalix dans la perméabilité cellulaire est encore assez mal connu. En utilisant l'épithélium de la vessie urinaire de grenouille, dont les cellules transportent de l'eau et du sodium, Bourguet et Maetz (1961) avaient montré que les hormones neurohypophysaires modifient la perméabilité ; or, selon Pisam et ses collaborateurs (1970), l'ocytocine réduit la charge portée par la membrane apicale de ces cellules, ce qui

F. Treilhou





C. Bouchard

▲ ***A gauche, cellule embryonnaire de thyroïde de souris. On y voit le dictyosome à saccules fenestrés et les vésicules golgiennes qui s'accumulent à la face de maturation où, de plus, un tubule, assez dense aux électrons, correspondrait à l'ébauche du GERL. A droite, la surface des cellules peut être tapissée par des substances mucopolysaccharidiques (coat ou glycocalix) ; dans le cas de cet oviducte d'ascidie, l'accumulation de telles substances est très nette sur la paroi qui borde la lumière du tube (m. électroniques).***

Laboratoire de biologie des Vertébrés - Orsay

conduit à penser que les mucoprotéines de la glycocalix sont modifiées. En 1973, Pisam et Ripoche, en constatant que la vitesse de sécrétion de ces molécules n'est pas nettement influencée par l'ocytocine, concluent seulement à une modification, par l'hormone, de la configuration stérique de ces macromolécules. Il est encore trop tôt, semble-t-il, pour tenter d'établir des corrélations entre l'ultrastructure du coat et sa physiologie. Quoi qu'il en soit, la couche externe de la membrane unitaire, présente dans tous les types cellulaires, est faite essentiellement de mucoprotéines (Favard), et la glycocalix n'est, selon toute vraisemblance, qu'un élément surajouté à la surface de cellules qui sont en contact avec des liquides de composition plus ou moins variable : face apicale des cellules vésicales, rénales, intestinales. Elle est très notable à la face externe de l'endothélium des vaisseaux capillaires et à la surface des cellules qui bordent les « espaces de Disse », système particulier des sinusoïdes hépatiques (Shea, 1970). On constate aussi la formation d'une glycocalix importante à la surface de cellules sexuelles femelles en croissance, chez des animaux où cette maturation s'effectue au contact de la lumière du conduit génital (exemple des ascidies). Lehninger (1968) a suggéré que le « cell-coat » puisse jouer un rôle fondamental dans les *échanges ioniques,* puisque des mucosubstances tapissent même les neurones (rien n'est encore venu démentir cette hypothèse). On peut aussi penser que la glycocalix possède par ailleurs un *rôle protecteur,* un rôle de tampon entre la cellule et son milieu ; ainsi, l'amibe possède un revêtement mucoprotéique fort important qui doit lui permettre de supporter des variations de milieu assez considérables et d'évoluer sans dommages entre les particules d'un substrat qui risquerait de léser un plasmalemme nu.

Certaines *hormones* sont sécrétées suivant le processus que nous venons de décrire pour la glycocalix. C'est le cas d'hormones antéhypophysaires telles que FSH et LH. La *copule glucidique* de ces glucoprotides est accrochée aux polypeptides dans les saccules golgiens (Herlant, 1963; et surtout Racadot et coll., 1965). De plus, la vasopressine et l'ocytocine posthypophysaires auraient un précurseur commun d'origine cérébrale ; ce précurseur, ou produit de *neurosécrétion* (Stutinsky, 1951), serait formé au niveau golgien. Chez les Invertébrés Herlant-Meevis (1966) a démontré l'origine golgienne de la neurosécrétion observée dans les cellules ganglionnaires des Vers, des Mollusques et des Insectes ; les résultats sont similaires chez des Échinodermes (Unger). Il se peut qu'il en soit de même pour les autres groupes où la neurosécrétion a pu être caractérisée à partir de techniques histochimiques (Tuniciers : C. Bouchard et T. Lender, 1972). *La sécrétion serait réglée, dans la cellule, grâce à l'intervention de lysosomes* qui, fusionnant avec les grains de sécrétion, entraîneraient leur inactivation (Smith et Farquhar, 1966; Farquhar, 1969 et 1971; de Duve, 1974). Ce phénomène est qualifié de *crinophagie*. Ces lysosomes prendraient naissance à partir des tubules du GERL.

Notons enfin que la *membrane des vésicules* de sécrétion est incorporée au plasmalemme à la fin du processus d'exocytose (Northcote, 1971). Ainsi, au fur et à mesure des synthèses qui se produisent dans tout le cytoplasme de la cellule quiescente, celle-ci augmente de volume, et, simultanément, du matériel membranaire neuf, synthétisé au niveau de l'ergastoplasme et mûri dans le système golgien, vient fusionner avec le plasmalemme préexistant. L'activité des enzymes, que l'on a pu mettre en évidence au niveau de ces membranes en formation, est continuellement modulée par des mécanismes de rétro-action (« feedback ») et par l'ensemble des facteurs dont dépendent la croissance et la différenciation cellulaire (Smith et Farquhar, 1966; Hopkins 1969). La « sécrétion » de plasmalemme neuf dépend directement de l'abondance du système réticulo-golgien de la cellule (Boisseau). L'utilisation des hormones pour activer ces synthèses permettra peut-être d'établir des corrélations entre les observations biochimiques et ultrastructurales.

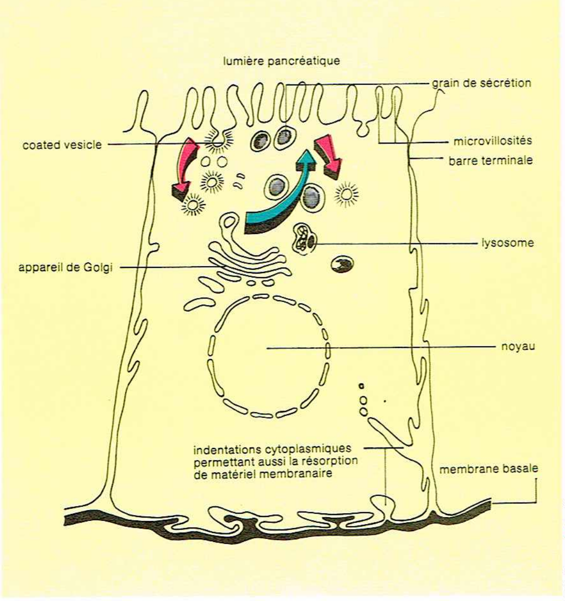
● *Devenir des substances dont la synthèse débute dans l'appareil de Golgi.*

D'après ce qui vient d'être dit, on serait conduit à croire que *les dictyosomes n'opèrent qu'en permettant la maturation des produits élaborés par l'ergastoplasme,* et cela en fixant des glucides — des glucides aminés ou des acides sialiques (eux-mêmes dérivés de glucides) — sur le matériel protéique en transit. Erreur grossière ! En effet, les saccules golgiens, utilisant les enzymes fabriquées au niveau de l'ergastoplasme ou des polysomes cytoplasmiques, *synthétisent aussi des polysaccharides.*

Northcote (1972) insiste sur le fait que les vésicules golgiennes participent de plusieurs manières à l'édification des *membranes cellulaires végétales :* les parois vésiculaires contribuent elles-mêmes à l'accroissement du plasmalemme, et leur contenu, essentiellement polysaccharidique, permet la formation du matériel membranaire pecto-cellulosique. Par contre la cellulose ne serait pas fabriquée dans le Golgi, mais à partir du plasmalemme et des enzymes adéquates (Northcote, 1969), ces dernières transitant néanmoins dans des vésicules golgiennes. L'ensemble des produits de sécrétion peut être conduit de manière organisée jusqu'à la surface des cellules végétales : ainsi s'expliquerait la formation d'épaississements bien localisés, spiralés ou réticulés, au contact de la paroi (cellules du bois par exemple).

● *Remarques au sujet d'un recyclage du matériel sécrété.*

Le matériel extra-cellulaire sécrété par les divers tissus peut subir des remaniements. Ainsi, dans les organes en croissance très active, tels que les méristèmes radiculaire ou foliaire, et dans le bois, une partie du matériel pecto-cellulosique est *réutilisé,* réabsorbé par les cellules (Buvat, 1958 et 1966; Coulomb, 1973). Ce dernier, en étudiant la croissance de la racine de scorsonère, a montré que les cellules pratiquent l'hétérophagie. A partir de la membrane cytoplasmique, il se forme des vésicules d'endocytose qui se groupent et se trouvent bientôt entourées d'une membrane commune. L'ensemble porte le nom de *corps multivésiculaire* (CMV). La cellule absorberait donc l'équivalent d'une glycocalix de cellule animale; dans ce cas elle contient divers composés pecto-cellulosiques, mais aussi des fibres de cellulose. Dans les CMV, les polysaccharides peuvent rester stockés, puis servir aux besoins de la cellule qui se divise, ou bien ils peuvent être entraînés dans les vacuoles très typiques des végétaux; dans ce dernier cas, les CMV se soudent aux vacuoles, puis leur contenu se mêle au leur avant d'être plus ou moins dégradé. Entamée au sein des CMV — ils contiennent des hydrolases qui, vraisemblablement, leur sont apportées par des vésicules golgiennes (protophytolysosomes) — la dégradation se poursuit dans les vacuoles. Ainsi, les composés « squelettiques » en excès ou indésirables sont éliminés lors de l'évolution de la paroi et de la croissance tissulaire. Cette élimination est un recyclage de matière. (N.B. : il y a d'autres types de CMV, d'origine golgienne — ce sont des lysosomes, fréquents chez les animaux.)



▶ **Les « coated vesicles » de la cellule pancréatique exocrine. Durant une période d'intense sécrétion enzymatique, elles jouent un rôle essentiel dans la récupération par endocytose du matériel membranaire synthétisé en excès. L'ergastoplasme n'est pas représenté (d'après Geuze et Poort).**

On observe dans les cellules animales un autre type de recyclage des membranes : dans les cas de sécrétion intense, le plasmalemme tend à devenir surabondant et la cellule doit donc *résorber l'excédent*. Elle le fait en réabsorbant de petites surfaces membranaires par un *processus du type endocytose*. Il apparaît de petites invaginations qui se pédiculisent puis se séparent du plasmalemme, formant ainsi des vésicules dont la face externe est souvent tapissée d'éléments radiaires; ces *« vésicules tapissées »* sont donc une forme de *coated vesicles* à migration centripète, contrairement à celles du Golgi. Dans le cas des glandes séminales du rat, les « vésicules tapissées », qui entraînent une gouttelette de liquide extra-cellulaire chargée de protéines, vont s'incorporer au complexe golgien — ce qui complique donc son fonctionnement. Geuze et Poort ont montré que les cellules exocrines du pancréas récupèrent de la même manière une partie du matériel membranaire excrété (1973). Heuser et Reese (1973) constatent un mécanisme du même genre après une période d'intense fonctionnement de l'extrémité synaptique des axones : l'expulsion du médiateur chimique contenu dans les vésicules synaptiques golgiennes (Teichberg et Holtzman, 1973) est suivie par la récupération de matériel membranaire. Insistons sur le fait que ces vésicules tapissées sont chargées du transport sélectif de protéines extracellulaires (Droller et Roth, 1966; ovogenèse des Poissons; Fawcett, 1965; Roth et coll., 1962 à 1964, et Slautterback, 1967, travaux divers sur l'ovocyte d'Insecte ou sur l'épiderme de l'hydre, en particulier).

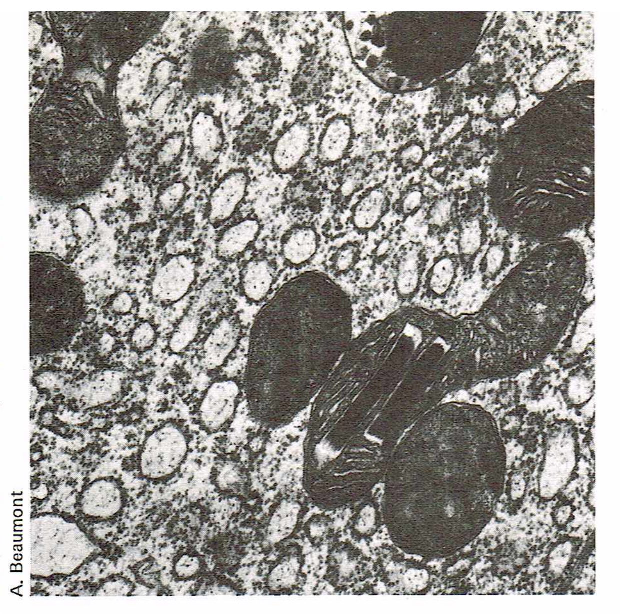
Activités mitochondriales

L'exposé des phénomènes sera très bref, le problème ayant été maintes fois abordé dans différentes revues.

Favard classe les activités physiologiques mitochondriales de la manière suivante; phosphorylation oxydative, concentration de substances, processus de synthèse.

Les mitochondries et la respiration. En 1913, Warburg fut sans doute l'un des premiers à penser que ces organites jouaient un rôle important dans ce phénomène. Bensley, en 1930, fit une tentative pour les isoler, mais ce furent Hogeboom, Schneider et Palade qui y parvinrent en 1948. La même année, Kennedy et Lehninger parvinrent à cette conclusion : la mitochondrie est un ensemble enzymatique, « isolé », original par rapport à tous les organites cellulaires (cyclophorase). On trouve des mitochondries dans toutes les cellules qui sont *plus ou moins directement* au contact de l'air *(aérobies)*; leur fonction est de parfaire la dégradation des glucides qui peut être amorcée en l'absence d'oxygène (en milieu *anaérobie*). La participation de l'oxygène permet une dégradation totale et la formation d'une importante quantité d'ATP riche en énergie.

L'analyse des schémas de dégradation des glucides a déjà été esquissée. Les premières étapes s'effectuent dans le nucléoplasme et le hyaloplasme. En *milieu oxygéné*, ce qui se passe dans les mitochondries a été évoqué lors de l'étude des coenzymes; l'acide pyruvique, en présence de CoA et d'une *déshydrogénase*, devient l'acétyl-CoA qui, après hydrolyse, donne avec l'acide oxaloacétique un produit de condensation, l'acide citrique; dès ce stade, le métabolite du glucose est entré dans le cycle de Krebs, constitué par une série de réactions proprement *respiratoires*; elles ont pour but de fractionner la libération d'énergie à partir de l'acide citrique et ne se déroulent qu'en présence d'oxygène. Le cycle de Krebs est un système de décarboxylation et de déshydrogénation, c'est-à-dire de fabrication d'eau et de CO_2 en présence d'oxygène; il permet une libération considérable d'énergie qui sert à la synthèse d'ATP. L'ensemble du système respiratoire est encore appelé système de *phosphorylation oxydative; les enzymes qui en sont responsables sont contenues dans les mitochondries*. Ce sont donc des organites absolument essentiels puisqu'ils permettent l'élaboration de la grande majorité des molécules riches en énergie. Les enzymes du cycle de Krebs sont localisées dans la matrice soluble. Les enzymes de la chaîne respiratoire sont situées dans la membrane interne, et les unités qui permettent le couplage des oxydations et des phosphorylations correspondent aux particules de 85 Å que Green (1968)


A. Beaumont

◀ *Exemple d'***accumulation de substances** *dans les* **mitochondries :** *outre les grains denses de nature minérale qui sont visibles dans la plupart de ces mitochondries, on trouve, dans l'une d'entre elles, deux corps paracristallins (pancréas de grenouille en microscopie électronique). Noter dans le haut du document la présence d'un corps multivésiculaire.*

et Racher (1968) ont pu repérer tout au long de cette membrane. On tente actuellement de *reconstituer* in vitro *les mécanismes naturels* à partir d'ensembles multienzymatiques; mais leur fonctionnement dépend aussi de la présence des membranes qui ne seraient pas seulement des supports physiques (Volfin, 1974).

Le *découplage* des phosphorylations et des oxydations peut être obtenu par le dinitrophénol, tandis que l'oligomycine empêche les oxydations. L'étude précise des phosphorylations, qui impliquent en fait des intermédiaires sur la voie de formation de l'ATP, est extrêmement difficile, compte tenu, en particulier, de la labilité des structures mitochondriales. Les expériences qui consistent à désactiver des fractions de mitochondries, puis à restaurer le couplage en ajoutant telle ou telle fraction protéique membranaire, pourraient apporter des précisions importantes sur le mode d'élaboration de l'ATP (Racker et Sanadi, 1973). En fait, on sait très peu de chose sur le couplage et la formation des liaisons riches. Les processus dont nous avons déjà parlé concernaient la dégradation des glucides. Or, divers métabolites des lipides ou des protides peuvent être finalement incorporés dans le cycle de Krebs. Ainsi, l'acétyl ~ S CoA, qui résulte de la dégradation des lipides par β-oxydation des acides gras (Lynen), est directement associé à la formation d'acide citrique. La dégradation des protéines avec production d'urée ne fournit qu'une petite quantité d'énergie; par contre, une partie des acides aminés se transforme en acide glutamique, lequel, après désamination, donne l'acide α cétoglutarique, un des éléments du cycle respiratoire. Les mitochondries exercent donc leur action non seulement sur les glucides, mais aussi sur les autres grandes familles chimiques.

Cependant, il ne faut pas en conclure que toutes les voies de dégradation passent par les mitochondries bien que leur activité soit prééminente; divers types de molécules disposent de plusieurs voies. Quand des cellules vivantes sont placées en milieu *anaérobie* ou très appauvri en oxygène, elles peuvent évidemment en mourir; pourtant certaines d'entre elles survivent et, faute de pouvoir respirer, dégradent leurs réserves glucidiques en produisant de l'acide lactique, facilement dérivé de l'acide pyruvique (effet Crabtree). Le bilan énergétique est alors très faible, limité à la formation de 2 ATP au lieu de 38 en milieu aérobie. Cette *fermentation lactique* est possible pour les Bactéries anaérobies facultatives (*Thermobacterium* des yaourts, d'autres espèces des céréales et streptocoques responsables de la fermentation spontanée du lait). Elle serait également importante pour certaines souches de cellules cancéreuses. La *fermentation alcoolique* se produit suivant un processus analogue chez certains types cellulaires. Il existe aussi des *fermentations butyrique* (vibrion découvert par Pasteur en 1860), *butylique* ou *métanique*. Replacée en milieu aérobie, la cellule retrouve son activité respiratoire, qui prend alors le pas sur la glycolyse anaérobie (effet Pasteur).

Les mitochondries et la ségrégation de constituants chimiques de la cellule.

Une mitochondrie en bon état accumule Na^+ et K^+ ainsi que Ca^{++} dont la pénétration dépend de la quantité d'ATP (Lehninger et coll., 1964) : il s'agit d'un *transport actif*. La concentration peut être assez forte pour entraîner la formation de granules dans la matrice

(Peachey, 1962-1964). De même, diverses molécules peuvent s'y accumuler, en particulier des granules protéiques de nature vitelline (dans l'ovocyte de planorbe, par exemple [Favard et Carasso, 1958], ou chez la grenouille [Ward, 1960]).

De fait, la perméabilité des membranes mitochondriales est très sélective pour les ions ou les divers types moléculaires.

Les techniques d'étude, qui sont complexes, ont permis de bien connaître les mouvements d'ions et il est même possible d'évaluer, au niveau de la mitochondrie, l'effet de divers antibiotiques sur la perméabilité aux cations. Chappell et Haarhoff (1967), Duée et Vignais (1969) sont parvenus à montrer qu'il existe des systèmes de transport différents suivant les types de cellules d'un même organisme; par exemple, ils sont très peu variés pour une cellule musculaire, extrêmement différenciée, polarisée du point de vue fonctionnel et chez laquelle les rapports cytoplasme-mitochondrie sont « fort simples »; cela est très différent dans une cellule hépatique où l'activité métabolique est très intense et concerne des substrats extrêmement variés.

Les synthèses mitochondriales.

Les mitochondries peuvent effectuer des synthèses protéiques. Elles utilisent à cet effet les acides aminés dissous dans le cytoplasme; l'assemblage se fait grâce à leurs acides nucléiques, au contact des ribosomes de la matrice. Au niveau membranaire, 25 % des protéines sont représentées par des enzymes. Bien sûr, il n'est pas toujours possible de savoir si telle ou telle enzyme a été formée dans la mitochondrie ou dans le hyaloplasme.

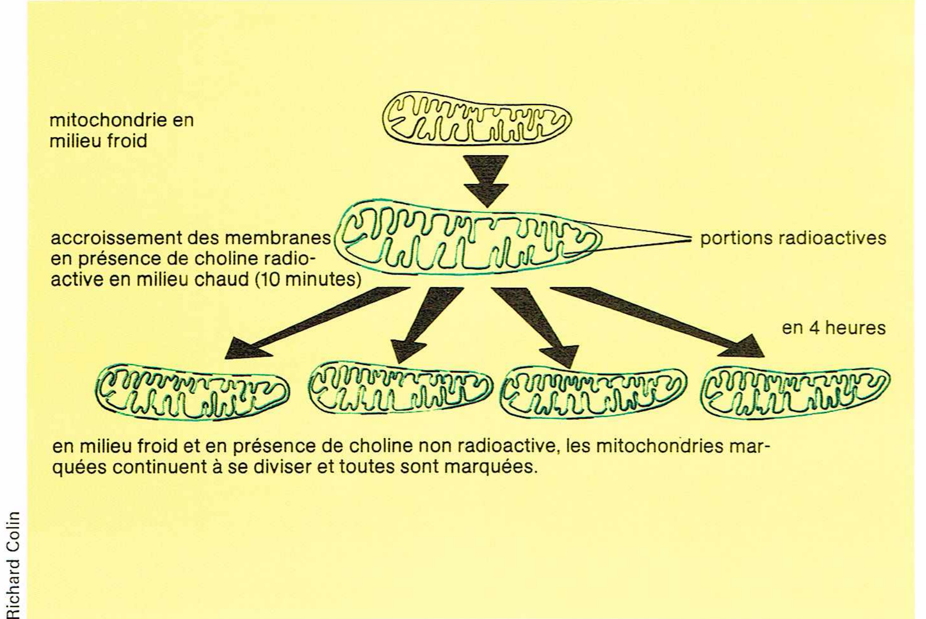
La synthèse lipidique peut être mise en évidence au niveau des membranes; ainsi, Luck (1963) a montré qu'elles incorporent de la choline marquée. La mitochondrie, d'après Volfin, est capable de former tous les acides gras qui lui sont nécessaires, le cytoplasme ne jouant alors qu'un rôle secondaire.

alors qu'il ne possédait évidemment aucune donnée biochimique, Altmann vit dans les mitochondries des Bactéries devenues les hôtes permanents des cellules.

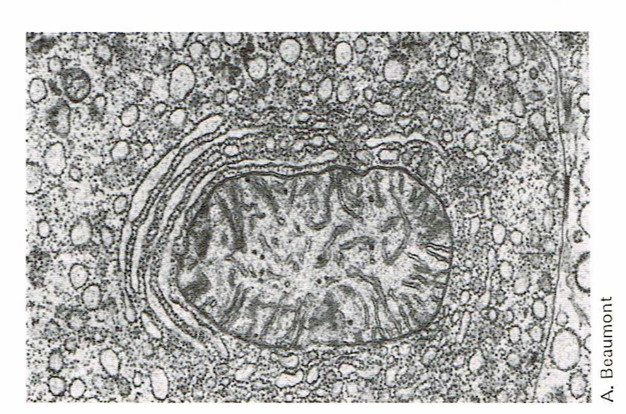
Y a-t-il des points communs entre les mitochondries et les Bactéries? L'ADN mitochondrial est souvent circulaire, ce qui rappelle ce que l'on trouve dans le cas des Bactéries. Les ribosomes mitochondriaux de 120 Å ont un coefficient de 70 S, comme les ribosomes bactériens. Mitochondries et Bactéries aérobies, enfin, contiennent toutes les enzymes nécessaires à la respiration. Le système de la chaîne respiratoire est situé, dans les deux cas, au contact d'une membrane de type plasmique.

Quelles sont, d'autre part, les différences notables? Il en existe deux qui sont frappantes : par rapport aux Bactéries, les mitochondries sont beaucoup plus pauvres en systèmes biochimiques; par contre, elles ont un complexe membranaire très important, sur lequel se localise le système enzymatique respiratoire. En suivant l'hypothèse d'une éventuelle symbiose, ces différences s'expliquent avec facilité. Les premières cellules infestées, vivant grâce à la glycolyse anaérobie, auraient pu tolérer ces Bactéries « parasites », sans doute exceptionnellement puissantes sur le plan de l'activité phosphorylante. Ensuite, de mutation en mutation, les Bactéries seraient devenues plus utiles en hypertrophiant leur système membranaire; dans le même temps, devenues « paresseuses », elles auraient « renoncé » à effectuer bon nombre de synthèses puisque leur hôte leur fournissait non seulement le gîte, mais le couvert... Reste à s'expliquer l'origine des dites mutations.

Ajoutons que les mitochondries ne sont pas morphologiquement inertes : elles se gonflent ou se contractent en fonction de la composition ionique du cytoplasme; elles se déforment grâce à un système contractile du type actine-myosine. Il est même très vraisemblable qu'elles peuvent se déplacer; ainsi, dans les cellules d'animaux carencés (Palade, 1959), on les voit s'accoler à des globules lipidiques du cytoplasme qu'elles entourent, se nourrissant ainsi des seules réserves que l'animal possède encore durant le jeûne. Les mitochondries se rassemblent également autour d'organites dont l'activité biologique est essentielle : ribosomes, fibrilles contractiles du muscle (Auber et Couteaux, 1963) ou microtubules du flagelle des spermatozoïdes (Fawcett et Ito, 1965). Dans ces cas, il semble que les mitochondries interviennent, dans le sens mécanique du terme, pour aider à la réalisation du travail cellulaire. Enfin, les mitochondries ont la capacité de faire des petits! Elles se reproduisent indépendamment du cycle de reproduction cellulaire comme on l'a établi au moyen de techniques de marquage radioactif (Luck).



Richard Colin



A. Beaumont

▼▶ *A gauche, représentation schématique de la croissance des* mitochondries *chez* Neurospora *(Champignon Ascomycète) en présence de* choline radioactive; *elles sont capables de se diviser après avoir fabriqué leurs lipides membranaires (d'après une expérience de Luck). A droite, microphotographie électronique d'une mitochondrie associée à un ergastoplasme très abondant et très organisé.*

Les rapports de la mitochondrie avec son milieu.

La mitochondrie a besoin, pour vivre, non seulement de métabolites dissous dans le hyaloplasme où elle baigne, mais aussi de molécules complexes, toutes préparées — enzymes, coenzymes, etc. D'autre part, elle possède de l'ADN et des ARN qui lui donnent les moyens d'effectuer des synthèses protéiques et, secondairement, lipidiques; une partie de ses ARN, toutefois, est d'origine nucléaire.

Si l'on raisonne de la même manière pour le reste de la cellule, on voit qu'elle est capable d'effectuer la quasi-totalité de ses synthèses, bien que la mitochondrie lui apporte beaucoup en fabriquant l'essentiel de son ATP. En somme, il y a là une *situation de dépendance mutuelle* que l'on pourrait qualifier de *symbiose,* si la cellule et ses mitochondries n'avaient pas la même origine. Dès 1890,

Sans aller jusqu'à parler de symbiose, il y a des faits qui montrent l'existence d'un *équilibre* entre la cellule et ses mitochondries, puisque la cellule peut, dans divers cas, survivre quelque temps en milieu anaérobie. Le nombre de mitochondries est régulé de façon à permettre un fonctionnement maximal de leurs enzymes : elles se trouvent dans un milieu où les substrats sont légèrement en excès. De plus, les cellules dévorent leurs mitochondries après quelque temps d'activité, et l'autophagie s'exerce essentiellement sur des mitochondries isolées. L'activité reproductrice de celles-ci leur permet de compenser les pertes. Il y a donc équilibre et même lutte, comme dans tous les cas de symbiose authentique.

LA MULTIPLICATION CELLULAIRE VÉGÉTATIVE

La multiplication cellulaire peut se faire par division « directe » de la cellule (on appelle *amitose* la division directe des cellules nucléées). Cela se produit essentiellement chez les Unicellulaires. Dans le cas des Pluricellulaires, la division est indirecte (mitose).

Division cellulaire directe

Cas des Bactéries.

Le bacille subtil, qui envahit en deux jours la surface d'une décoction de foin, peut être observé au microscope dans une chambre humide contenant un peu de cette décoction. Si la température est suffisamment élevée, chaque Bactérie se divise toutes les 20 à 30 minutes.

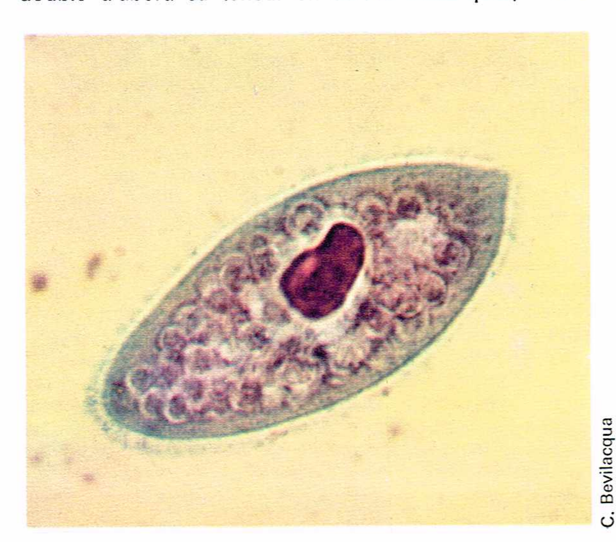
Cas des Unicellulaires.

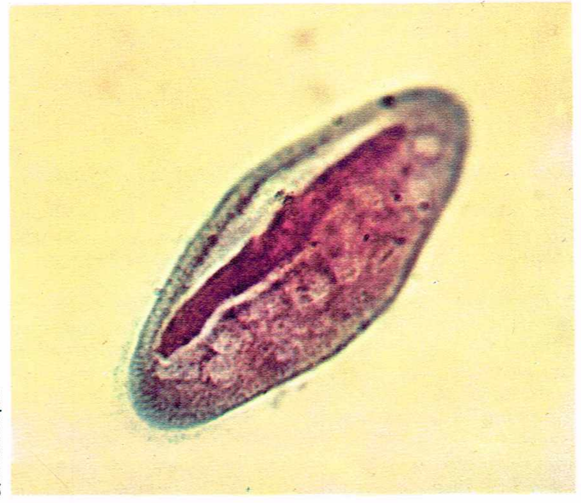
L'amitose peut s'observer chez de nombreux végétaux unicellulaires. Le cas des Diatomées est très caractéristique : le noyau s'étrangle et se clive dans le cytoplasme, puis celui-ci donne naissance aux nouvelles parois qui protégeront les cel.ules filles; il s'agit d'un matériel qu'il est facile d'observer.

La division directe est le mode de reproduction ordinaire de la plupart des Protozoaires. Le clivage nucléaire, suivi du clivage cytoplasmique, s'opère d'une manière apparemment très simple si l'on observe une amibe ou une paramécie vivant dans un milieu de culture assez riche pour favoriser la division. Pourtant, le cas des Ciliés est déjà très complexe puisque l'on y trouve un *macronucleus* et un *micronucleus;* ainsi, chez *Tetrahymena,* la division du premier est une division directe, alors que le second se divise par mitose. Elliott a montré, en 1963, que lors de la reproduction végétative le macronucleus double d'abord sa teneur en acides nucléiques, bourgeonne, puis se divise après élimination des bourgeons dans le cytoplasme. Mais les faits sont sensiblement plus compliqués; avant la division, Elliott constate qu'il y a plusieurs vagues de bourgeonnement du macronucleus et que les bourgeons éliminés drainent, dans le cytoplasme, des corpuscules formés d'ARN. Durant ces phénomènes, le noyau synthétise beaucoup d'ARN, dont une grande partie passe dans le cytoplasme (Sirlin, 1960). On voit que cette amitose est un phénomène fort complexe (il n'est d'ailleurs pas identique chez tous les Ciliés). On peut se demander, avec Ray (1963), comment le mécanisme de division directe du macronuleus se trouve contrôlé chez ces animaux. En effet, sans qu'il soit possible d'y voir se former des chromosomes, la division permet le partage régulier du lot d'ADN entre les cellules filles. Bien plus, depuis 1932, A.M. Elliott conserve une souche de *Tetrahymena,* dépourvue de micronucleus, sans observer d'aberrations d'ordre génétique. Enfin, Ray a constaté que le nombre de granules Feulgen + (ADN) est extrêmement variable suivant les individus de l'espèce sauvage. Ces granules correspondraient à l'hétérochromatine, et les filaments ténus qui leur sont attachés représenteraient l'euchromatine incapable de se condenser durant l'amitose. En ce qui concerne la migration et la séparation de deux lots de chromatine, la microscopie électronique ne permet pas de voir des structures contractiles ni de découvrir des systèmes microtubulaires tracteurs ou conducteurs au niveau des granules Feulgen +.

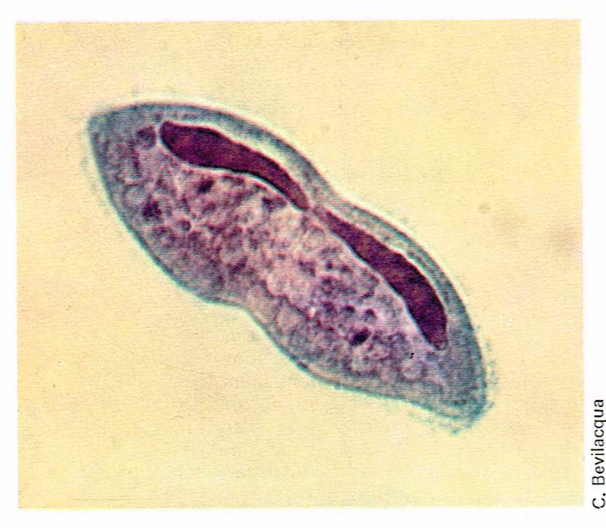
Cas des Pluricellulaires.

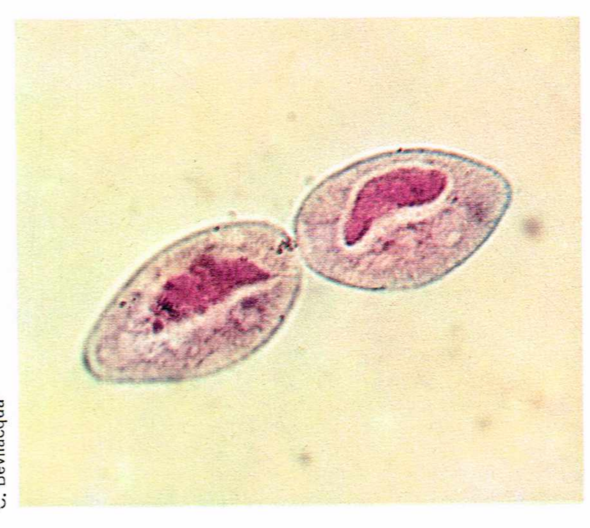
Sans être fréquente, la division directe est possible chez les Pluricellulaires. En 1887, Arnold constata le phénomène en observant des leucocytes vivants de grenouille. En 1928, sur coupes histologiques, Charipper et Dawson observèrent des cas d'amitose dans les





C. Bevilacqua





C. Bevilacqua

◀ *Ces quatre microphotographies représentent différentes phases de la division ou reproduction asexuée chez une paramécie* (**Paramecium putrinum**) [*préparations fixées et colorées*].

érythrocytes nucléés de *Necturus*. Il faut toutefois souligner que, souvent, la division du noyau n'est pas suivie de clivage cytoplasmique *(nucléodiérèse sans cytodiérèse)*.

Hugues notait, en 1952, que l'amitose était exceptionnelle en cultures de tissus.

La formation de cellules binucléées par clivage nucléaire direct est fréquente dans les tissus glandulaires d'Insectes ou de Crustacés (Kater, 1940). Il en est de même dans le muscle et le foie de Vertébrés adultes, où la mitose n'est plus guère possible dans les conditions normales (Münzer, 1925; Clara, 1931; Brues et Marble, 1937); en vieillissant, le tissu perd la possibilité de s'accroître par mitoses (Wilson et Leduc, 1948); mais si l'on enlève une partie du foie, les cellules qui subsistent retrouvent leur activité mitotique (Abercrombie, 1957; Oide, 1958; J. Bouchard). Selon H. C. Elliott (1936), la division totale est un phénomène normal au sein du tissu cartilagineux. De plus, si l'on provoque la prolifération du cartilage, ce qui est possible chez la souris par exemple, on observe d'abord une activité mitotique, puis, au bout de deux semaines, les cellules ne peuvent plus se multiplier que par amitose, complète ou incomplète (May et Bouchard, 1962). Au sein de tissus greffés et subissant un début de dégénérescence, la division directe et, plus souvent, la formation par amitose de cellules binucléées ne sont pas exceptionnelles (Bouchard et May, 1960). On serait tenté de penser que la division cellulaire directe, au moins chez les Vertébrés, est un processus qui tend à remplacer la division mitotique dans des tissus adultes, voire plus ou moins sénescents. Il s'agirait d'une réaction de souffrance. Il serait cependant risqué de généraliser : J. A. Thomas, de 1935 à 1938, a montré que certaines cellules embryonnaires cultivées pouvaient se reproduire par amitose; avec des cellules musculaires, Chèvremont aboutit à des conclusions du même ordre, ce qui fut confirmé par Bassleer (1962); de plus, toujours d'après Chèvremont, dans une lignée de cellules dont on suit le devenir en contraste de phase, des divisions amitotiques s'observent entre deux divisions mitotiques.

Division cellulaire indirecte : la mitose

Les aspects d'une cellule en division

La division mitotique peut être observée sur le vivant ou sur coupes histologiques. Elle suit une période « quiescente », ou *interphase*, plus ou moins longue.

● Grâce à la *culture de tissus* et à l'emploi du *contraste de phase*, on peut analyser les transformations que subit la cellule vivante durant la mitose. L'observation doit se faire à température constante (37,5 °C pour les animaux à sang chaud). On voit alors que la mitose comprend plusieurs étapes.

La **préparation à la mitose.** Cette préparation n'est pas nettement décelable par l'observation directe; rappelons qu'elle comprend essentiellement une phase S durant laquelle le taux d'ADN est multiplié par deux, puis une phase G_2, durant laquelle divers matériels sont synthétisés. A la fin de G_2, *le noyau gonfle* nettement.

La **prophase.** Le nombre de grains de chromatine du noyau augmente; puis ceux-ci tendent à fusionner, formant progressivement des filaments ou des bâtonnets, qui deviennent de plus en plus nets; par contre, le ou les nucléoles s'estompent puis disparaissent. Enfin, très brusquement, la membrane nucléaire se désagrège. Cette phase dure au total environ 10 minutes.

La **prométaphase.** Elle est caractérisée par une amélioration du dessin des chromosomes qui peuvent se déplacer plus ou moins mais sans direction préférentielle. Cette phase est très généralement assimilée à tort à la prophase.

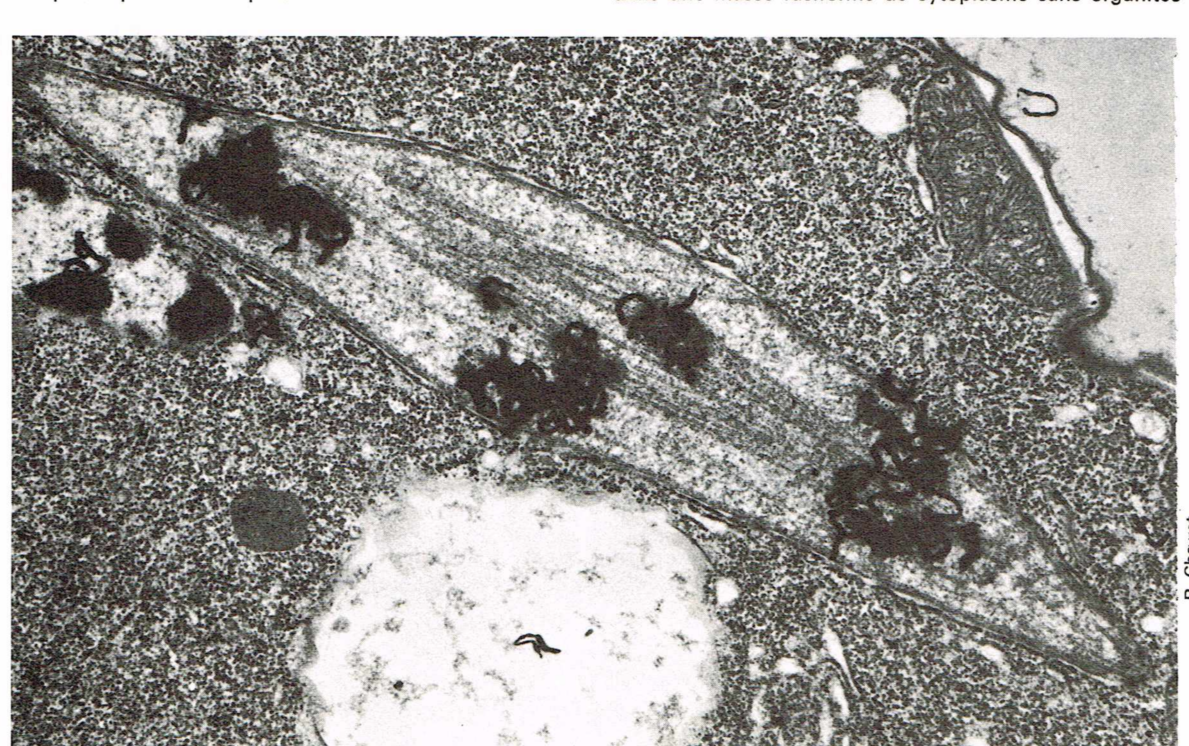
La **métaphase.** Les chromosomes se rassemblent, formant une sorte d'étoile, ou *plaque métaphasique;* on a l'impression qu'ils sont reliés les uns aux autres en un point et que les extrémités de chacun d'eux sont libres dans le plan équatorial. Prométaphase et métaphase durent au total de 25 à 35 minutes.

L'**anaphase.** Brusquement, les chromosomes se séparent en deux groupes, qui migrent vers les pôles de la cellule; chaque groupe forme une sorte de calotte dont les éléments sont disposés comme les baleines d'un parapluie. Une étude plus attentive permet de voir qu'à la fin de la métaphase chaque chromosome était en fait constitué de deux moitiés séparées par une très mince bande claire longitudinale, mais qui restaient soudées en un point, le *centromère;* or, au début de l'anaphase, il y a dissociation des deux éléments du chromosome, ou chromatides, et rupture du centromère. Lors de la migration polaire, les deux groupes de chromosomes sont en fait identiques, constitués par des *chromatides sœurs*. L'anaphase dure de 3 à 8 minutes.

La **télophase.** C'est l'inverse de la prophase. Les chromosomes perdent leur netteté, ils ont l'air de gonfler, puis ils forment une masse dont le dessin devient très imprécis. Cette masse devient subsphérique, s'éclaircit et les nucléoles reparaissent ainsi que la membrane nucléaire, A ce moment, le cytoplasme se clive *(plasmodiérèse)*. et les deux cellules se séparent progressivement.

L'ensemble des processus est de durée variable, comprise entre 40 et 60 mn.

La mitose implique d'*importantes modifications cytoplasmiques*. Dès la prophase, on remarque l'apparition, près du noyau, d'une masse claire qui ne contient pas de mitochondries et semble constituée d'éléments rayonnants; elle porte le nom d'*aster;* celui-ci se divise avant ou pendant la prophase; chaque élément effectue alors une migration en sens inverse autour du noyau, de telle sorte qu'à la prométaphase les chromosomes sont *inclus* dans une masse fusiforme de cytoplasme sans organites



▶ *Division du* micronucleus *de* Tetrahymena. *C'est une* division indirecte, *avec formation de microtubules bien distincts (fuseau mitotique). Comme dans le cas des autres Ciliés, le macronucleus subit, lui, une division directe (il n'est pas visible ici). Noter que la division se fait après une synthèse d'ADN chromatinien : les traces noires contournées correspondent à l'incorporation de thymidine ³H (autoradiographie) [microphotographie électronique].*

R. Chavret

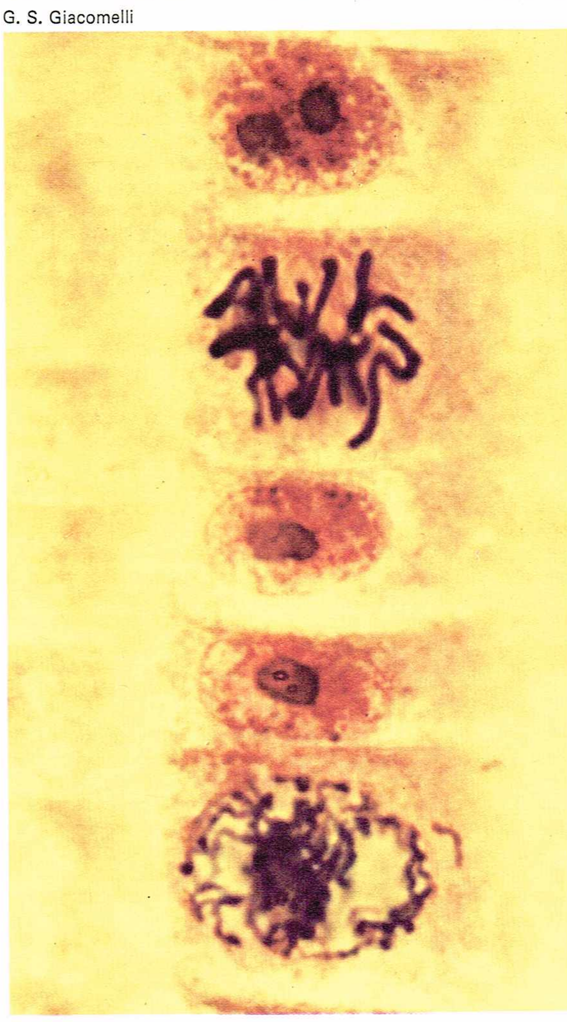
et dont les extrémités sont représentées par les asters. Les mitochondries sont très souvent groupées près du noyau avant la disparition de la membrane; puis elles s'amincissent et se répartissent apparemment en deux lots à l'anaphase. Leur morphologie typique est reconstituée après la séparation des deux cellules. Dès 1910, Fauré-Frémiet avait remarqué cette répartition en étudiant la division des Protozoaires vivants. En général, il n'y a pas de véritable « chondriodiérèse » durant la mitose. Les mitochondries sont réparties passivement et de manière approximative. En d'autres termes, la multiplication des mitochondries est indépendante de la mitose.

▼ *Ces quatre photographies montrent les différentes phases de la mitose végétale.*
A gauche,
on observera au centre (2e cellule), une prophase une métaphase déjà avancée (4e cellule); et à droite (3e cellule) une anaphase.
Au centre,
également une métaphase, et dans le bas, une cellule en fin de prophase.
A droite,
une anaphase très nette, les chromosomes migrent vers les pôles, chaque groupe forme une calotte dont les éléments sont disposés en baleines de parapluie.

En bas, au centre, une télophase observée dans une cellule de racine de jacinthe. On notera que, comme il s'agit de cellules végétales, la mitose est dépourvue d'asters.

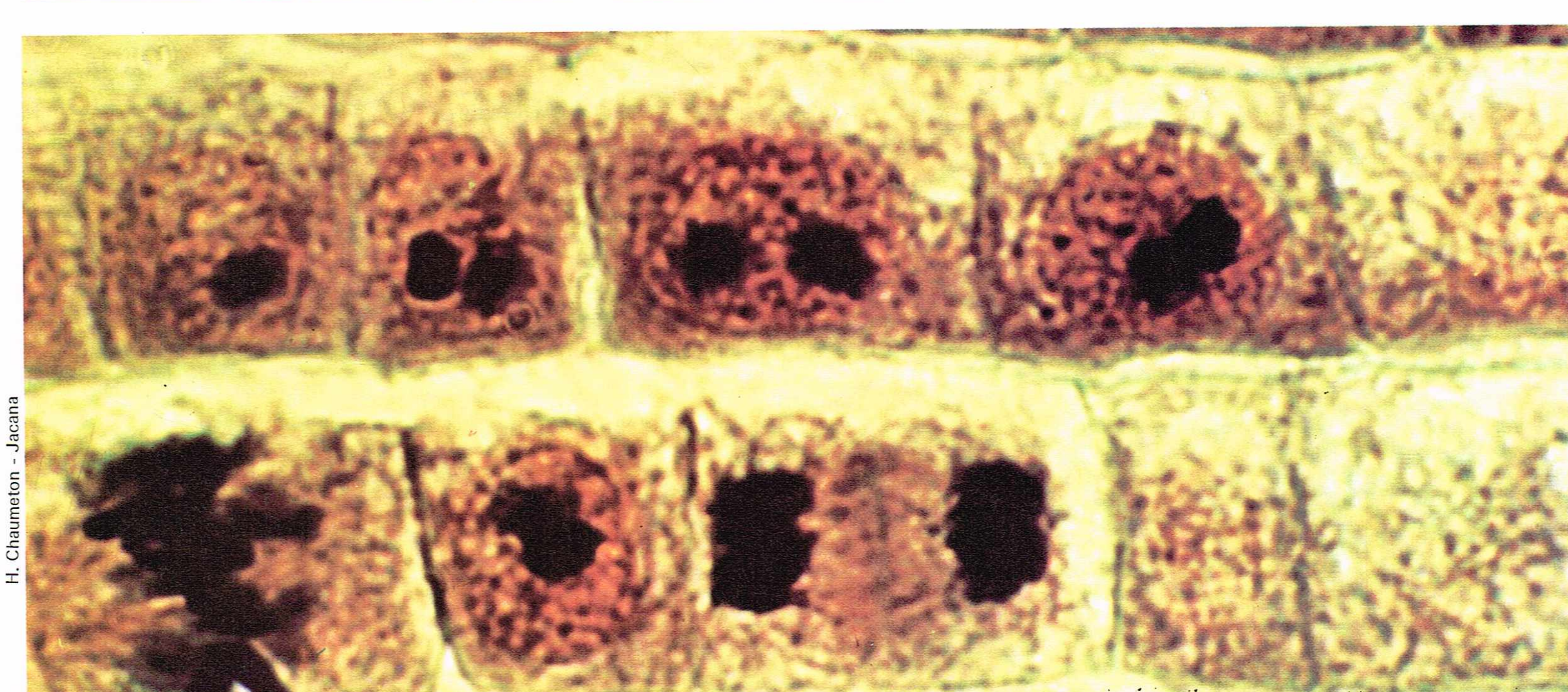
G. S. Giacomelli

G. S. Giacomelli



G. S. Giacomelli





H. Chaumeton - Jacana

▶ ***De haut en bas et de gauche à droite, les différentes phases de la mitose animale (cellule somatique).***

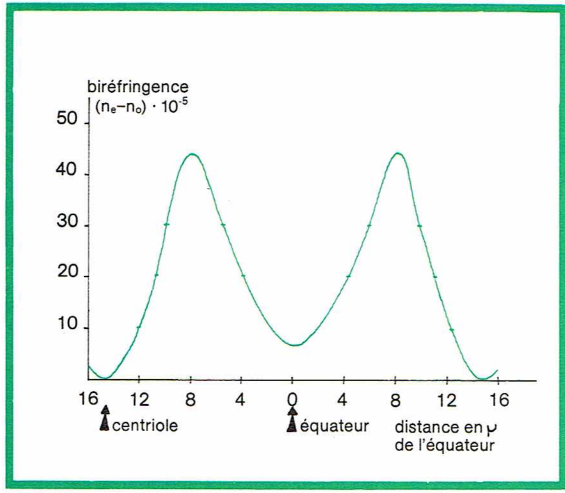
Le cortex cellulaire se modifie beaucoup à partir de la fin de la métaphase : on voit apparaître des *boules amiboïdes,* expansions cytoplasmiques trapues et très mobiles. (Des prises de vues cinématographiques réalisées image par image accélèrent ces mouvements et donnent l'impression que le cytoplasme bouillonne.) La mitose terminée, les mouvements s'arrêtent. Ajoutons, pour finir, que la cellule qui entre en mitose acquiert toujours une forme plus ou moins subsphérique, ce qui est le signe de variations de la tension superficielle.

L'analyse précise de la mitose a pris plusieurs décennies, mais, Lewis, dès 1924, avait réalisé un film sur le phénomène; utilisant d'autres types cellulaires, Strangeways et Canti (1927), puis Comandon, Jolly et de Fonbrune parvinrent à plus de précision en éclairage normal ou sur fond noir; c'est le contraste de phase qui permit d'améliorer les résultats (Hughes et Fell, 1949; Gey, 1951; Frédéric et Chèvremont, 1951, etc.). Mais il faut insister sur le fait que la technique n'est pas tout : n'importe quelle cellule en division ne permet pas toujours une observation claire des faits, et il a fallu choisir les types cellulaires les mieux adaptés (grande taille, nombre de chromosomes aussi faible que possible, cytoplasme clair, pauvreté en granulations lipidiques ou en pigments, etc.). Le choix d'un matériel d'étude est la démarche initiale et sans doute la plus importante pour le chercheur.

● Observée au *microscope polarisant,* la cellule animale vivante offre un aspect bien différent, qui permet de préciser les faits déjà notés.

Durant la mitose, il apparaît des éléments biréfringents dont l'importance est absolument primordiale. Ainsi, les *asters* tranchent sur le fond sombre de la cellule en prophase; avant le début de la métaphase, on voit que du matériel biréfringent s'installe entre les deux pôles astériens en migration : il forme le *fuseau mitotique.* La biréfringence de l'ensemble augmente progressivement puis, à partir de la fin de la métaphase, tend à diminuer au niveau du fuseau. Dans l'ensemble, la structure nettement fibrillaire du fuseau et des asters est toujours perceptible (Hughes, 1952). Elle est particulièrement frappante dans les ovocytes de certaines Annélides marines, les cellules sexuelles mâles d'Insectes ou les pollens (Inoué, à partir de 1951). Par contre, elle est très difficile à observer en lumière polarisée avec l'œuf d'oursin ou les cellules d'embryon de poulet en culture (Schmidt, 1939; Swann, 1952; Hughes, 1952). Selon ce dernier, de telles différences sont en rapport direct avec le nombre de chromosomes de l'espèce étudiée : si le nombre est élevé, le nombre de fibres paraît être plus grand, et celles-ci seraient plus fines que pour les cellules à nombre de chromosomes restreint. Mais cela n'est pas évident.

Observant avec précision la structure du complexe fibrillaire fusorial, Inoué a découvert chez une Annélide, le chætoptère, un type de fibres que l'on a retrouvées, depuis, chez tous les types cellulaires, animaux et végétaux : il s'agit des *fibres chromosomiques,* de diamètre un peu supérieur aux autres et qui relient chaque chromosome au centre astérien.



▶ ***Représentation schématique de la*** **biréfringence** ***le long de l'axe du fuseau achromatique : mitose d'œuf d'oursin (d'après Hughes).***

Richard Colin

LES PHASES DE LA MITOSE (cellule somatique animale)

DÉBUT DE LA PROPHASE

MILIEU DE LA PROPHASE

FIN DE LA PROPHASE

PROMÉTAPHASE

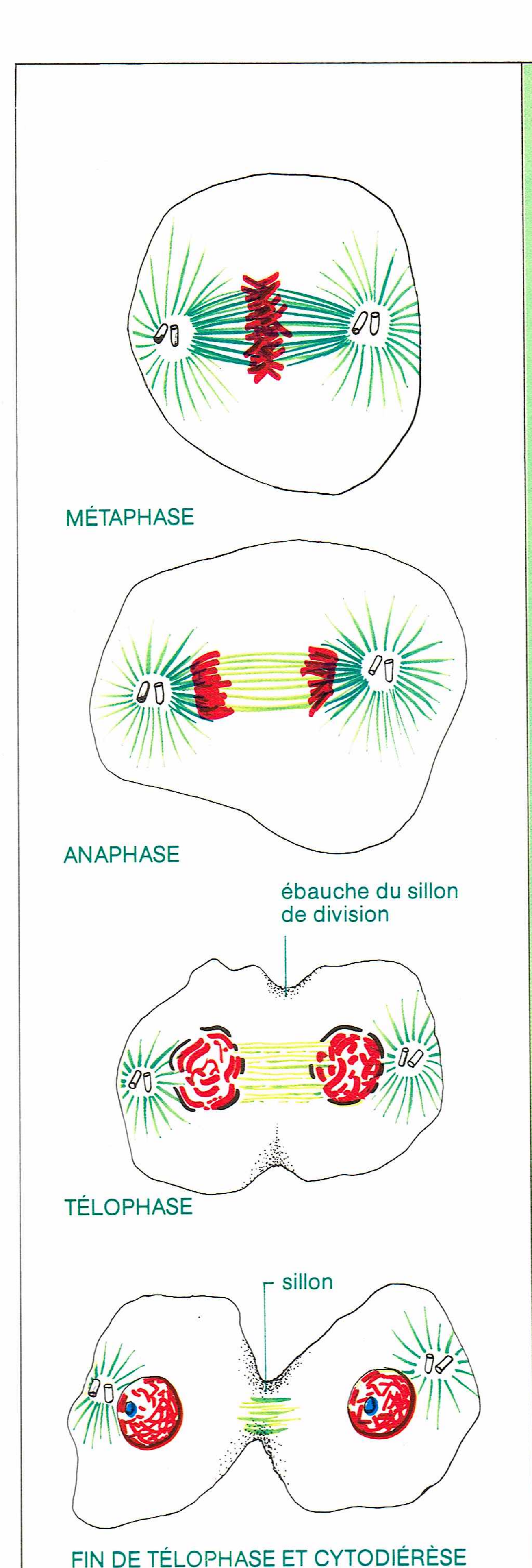


- chromatides non spiralées
- nucléole très visible
- centriole dédoublé
- fibres astériennes en formation

-chromatides toujours non spiralées
- nucléole régressant
- les centrioles se repoussent
- asters bien nets
- fibres continues entre les centrioles

- chromatides très nettement spiralées
- nucléole invisible
- noyau plus ou moins déformé
- la migration des centrioles se poursuit
- asters entièrement constitués
- fibres continues de plus en plus nombreuses

- chromosomes tendant à se grouper
- membrane nucléaire fragmentée. Elle finit par disparaître.
- les pôles de la division sont déterminés
- les fibres chromosomiques se forment (vert foncé)



- chromosomes groupés en plaque équatoriale
- les fibres chromosomiques et fusoriales coexistent

- les chromosomes, dont les centromères se sont dédoublés, migrent vers les pôles, tandis que les fibres chromosomiques se raccourcissent
- il apparaît de nouvelles fibres entre les deux lots de chromosomes : les fibres interzonales (vert-jaune)
- les fibres continues régressent.

- les chromosomes se déspiralisent
- la membrane nucléaire se reforme
- le sillon de division s'ébauche.

- les chromosomes sont totalement déspiralisés.
- le nucléole se reforme
- les fibres astériennes régressent
- les restes de fibres interzonales persistent encore dans le cytoplasme qui relie les cellules filles.

Richard Colin

Soulignons le fait que seules les cellules animales possèdent des asters notables. Les plantes ont des *mitoses anastrales,* ce qui tendrait à prouver que les fibres astériennes ne jouent pas un rôle absolument essentiel dans la mitose. Peut-être vaudrait-il mieux dire que la structure microscopique, voire moléculaire, des pôles mitotiques peut être organisée de plusieurs manières, lesquelles sont également favorables à la division.

La technique de microscopie en lumière polarisée est encore très utilisée de nos jours, en particulier par les spécialistes de thermodynamique qui cherchent à comprendre le mode de fonctionnement précis du complexe fusorial (Stephens, 1973).

● *L'étude de matériel fixé permet de préciser les observations.*

■ L'observation de la *chromatine* et des *chromosomes* est grandement améliorée par la coloration des cellules. Nous savons que la réaction de Feulgen est positive au niveau de l'ADN, ce qui permet de voir plus nettement les chromatides, de localiser précisément le centromère et, dans certaines conditions, de distinguer des structures à l'intérieur de chaque chromatide.

Le nombre de chromosomes est fixe pour toutes les cellules somatiques des individus d'une espèce donnée.

L'œuf de tous les êtres vivants comporte un nombre *pair* de chromosomes; c'est une *cellule diploïde* (2 *n*). Ensuite, la cellule œuf peut avoir deux modes évolutifs : les cellules qui en dérivent pour donner l'individu peuvent être *diploïdes* ou *haploïdes;* dans ce dernier cas, le nombre de chromosomes est réduit de moitié (*n*). Par contre chez un Mammifère, les organes ne comportent que des cellules diploïdes, excepté les glandes sexuelles. C'est la division de ces cellules diploïdes, ou mitose, qui nous retient pour l'instant.

Il ne faut cependant pas oublier que le cycle de vie des Champignons est essentiellement haplobiontique et que celui des Fougères et de nombreuses Algues est haplo-diplobiontique.

L'observation directe de mitoses ne permet pas souvent de dénombrer précisément des chromosomes préalablement colorés : ceux-ci restent toujours plus ou moins groupés. De fait, les cas favorables sont exceptionnels; ainsi, l'*Ascaris* du cheval fournit des œufs très clairs et de taille suffisante pour que l'on puisse y dénombrer 4 chromosomes *(A. megalocephala bivalens);* de même, l'œuf de drosophile en comporte 8 (2 *n* = 8). Avec les Vertébrés, la difficulté d'observation augmente; les Amphibiens sont cependant assez favorables car ils ont de grandes cellules, on compte déjà 24 chromosomes chez la salamandre, et davantage chez les Oiseaux (souvent plus de 60). Dans ce dernier cas, les dénombrements ne peuvent être faits qu'en observant les cellules bien étalées qui se développent en culture de tissus (Chèvremont). Chez les végétaux, les problèmes sont du même ordre. Toutefois, l'étude de certains pollens peut être faite directement (Swanson, avec *Tradescantia*).

Diverses techniques permettent de préparer les cellules en mitose pour effectuer le décompte des chromosomes. L'*écrasement* des cellules *(squash)* donne de bons résultats.

Depuis 1960, selon de Grouchy, l'étude des chromosomes a pu être entreprise de manière plus systématique et avec une technique très efficace. On utilise des cultures ou des cellules maintenues en survie et *bloquées en métaphase* par un agent chimique; lorsque le blocage concerne un nombre suffisant de cellules, on provoque dans le milieu un *choc hypotonique* (Hsu et Pomerat, 1953) entraînant leur gonflement et la dispersion des chromosomes dans chacune d'elles. Après fixation du matériel, on peut aussi écraser les cellules afin de mieux distinguer chacun des chromosomes.

Les faits montrent qu'il n'y a pas de rapport étroit entre le nombre de chromosomes d'une cellule et le degré d'évolution de l'individu auquel elle appartient. Par exemple, le nombre est voisin chez des formes aussi éloignées que l'homme, le chat, la souris et les céréales; de plus le saumon possède 60 chromosomes, nombre nettement supérieur au nôtre.

Fait curieux, on s'est aperçu que le nombre des chromosomes n'est pas toujours aussi constant qu'on le pensait : pour un même individu il est possible de trouver, dans divers tissus, des variations qui, chez les Mammifères, peuvent atteindre jusqu'à 5 ou 7 chromosomes de plus ou de moins par rapport au lot normal d'une espèce donnée.

Ce phénomène d'*aneuploïdie* concerne évidemment un nombre assez faible de cellules. Biesele, dès 1944, s'était posé la question de savoir quelles pouvaient être les limites d'aneuploïdie tolérées. Timonen et Thermann (1950) constatèrent que les anomalies numériques augmentaient avec l'âge du sujet. Nous verrons dans un chapitre ultérieur que diverses anomalies du nombre de chromosomes peuvent affecter l'ensemble des cellules d'un individu; ces anomalies, décelées depuis peu, car elles concernent seulement un ou deux chromosomes, induisent dans l'espèce humaine des malformations et des arriérations mentales définitives. C'est là un des types de maladies génétiques (Lejeune, Gautier et Turpin, 1959). Il semble que l'aneuploïdie soit exceptionnellement importante chez la souris, en particulier au niveau du foie; mais, en ce qui concerne ce dernier, nous sommes en fait devant un nouveau problème, celui de la *polyploïdie :* le nombre de chromosomes peut être triploïde ou tétraploïde; certains tissus sont alors *hétéroploïdes :* les cellules contenant *n*, 2 *n*, 3 *n*, 4 *n* et parfois 8 *n* chromosomes. Ce dernier nombre correspond aux cellules hépatiques de l'organe en « régénération » mis en évidence par Beams et King en 1942. (Biesele estimait déjà qu'il y avait 4 à 5 % de cellules octoploïdes dans un foie normal.)

L'aneuploïdie et l'hétéroploïdie ne se manifestent pas seulement chez les Mammifères. Le cas des Amphibiens est un des plus classiques depuis les recherches de Fankhauser (1945); cet auteur a, de plus, montré que l'hétéroploïdie pouvait être obtenue chez ces animaux en traitant l'œuf par un choc thermique. Chez les Arthropodes, le cas d'*Artemia salina* est le mieux connu; il y a des races de ploïdie fort différente (Artom, 1912-1928; Barigozzi, 1941). Une punaise aquatique, *Gerris lateralis,* comporte des cellules hautement polyploïdes (Geitler, 1937). En fait, chez les Insectes, on trouve fréquemment ce que l'on nomme l'*endomitose,* c'est-à-dire la multiplication de chromosomes qui restent accolés dans le noyau (→ chromosomes polytènes); ce processus n'est pas extrêmement net chez *Gerris,* mais est évident chez *Drosophila, Culex* ou *Sciara,* trois Diptères fort communs (Painter et Reindorp, 1939; Berger, 1937). Enfin, la polyploïdie n'a rien d'exceptionnel chez les végétaux, et nous verrons qu'elle peut être accentuée par diverses techniques expérimentales.

▼ ***Le nombre de chromosomes peut être extrêmement réduit chez certaines espèces; dans le cas de la variété* univalens *d'*Ascaris megalocephala*, on voit que l'œuf, observé* in toto*, comporte deux* chromosomes. *Ils sont clivés; il s'agit donc d'une fin de métaphase (coloration au bleu de toluidine dilué).***



J. Bouchard

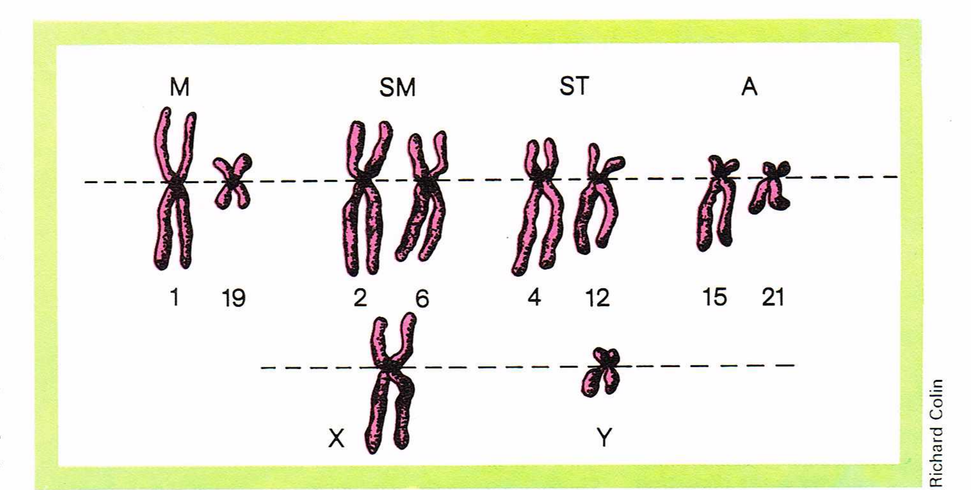
La **forme** et la **structure** des chromosomes ne sont pas quelconques.

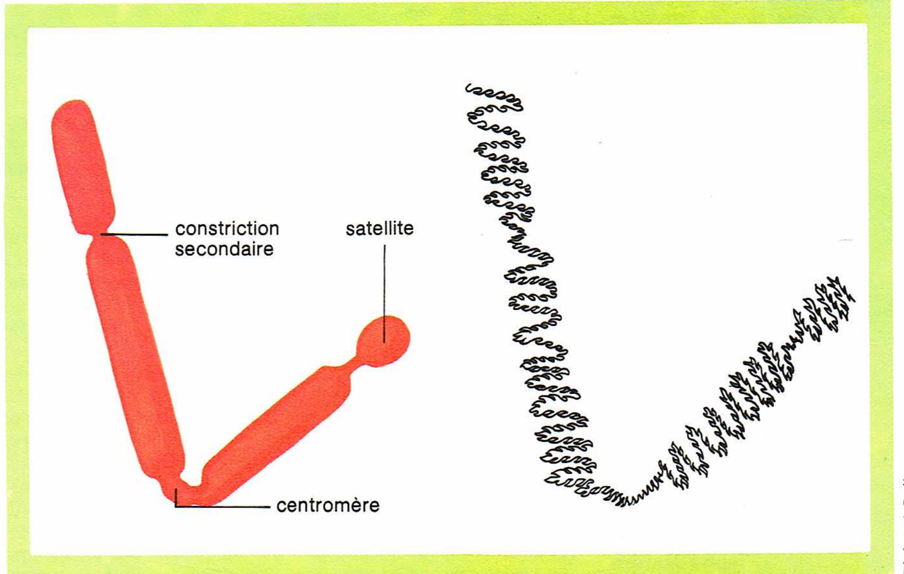
■ Dès l'interphase, on peut constater que la colorabilité des éléments chromatiniens n'est pas homogène : on distingue des *grains* et des *filaments* chromatiniens ; mais, de plus, on trouve parfois un « élément particulier », dit *hétéropycnotique,* dont la nature n'est pas toujours la même. Heitz a montré qu'il pouvait s'agir de portions de chromosomes. Dès 1892, Rosen avait constaté cette colorabilité particulière chez les plantes. Au début du siècle, Mac Clung puis Montgomery montrèrent que certains corpuscules hétéropycnotiques, ou *hétérochromosomes,* étaient liés à la détermination du sexe.

La coloration des chromosomes métaphasiques permet de distinguer leur forme et de déceler des chromosomes sexuels. La structure fine des divers types chromosomiques d'une cellule est actuellement l'objet de nombreuses études.

— La *forme des chromosomes* est caractéristique pour toutes les cellules d'une espèce donnée. On les classe en fonction de la *longueur des chromatides* et de la *position des centromères.* Pour une analyse précise, il faut photographier des métaphases, fixées après passage en milieu hypotonique, agrandir les photos, puis découper les chromosomes, que l'on groupe deux par deux (dans le cas de cellules diploïdes). En comparant une panoplie de femelle et une panoplie de mâle, il apparaît des différences, plus ou moins sensibles ; chez un Mammifère, par exemple, on constate que les deux sexes ont en commun des paires de chromosomes, appelés *autosomes,* et qu'ils diffèrent par deux chromosomes sexuels, ou *hétérochromosomes.* Les chromosomes sexuels sont assez faciles à distinguer chez le mâle : ce sont ceux qui restent quand on a réussi à grouper tous les autres deux par deux... et ils sont d'ailleurs très différents l'un par rapport à l'autre ; on les appelle X et Y. Chez la femelle, il s'agit de deux chromosomes X, que les spécialistes parviennent assez facilement à découvrir. On établit ainsi un *caryotype* pour une espèce donnée (par exemple : homme : 44 A + XY ; femme : 44 A + XX). Mais ce schéma n'est valable que pour un certain nombre d'espèces, d'ailleurs fort différentes puisqu'il s'applique aussi bien à l'homme qu'à la drosophile. En fait, le nombre total de chromosomes peut être impair chez le mâle de certaines espèces : il n'y a alors qu'un hétérochromosome contre deux chez la femelle. C'est le cas de l'Hémiptère *Protenor* (♀ : 12 A + XX ; ♂ : 12 A + XO) ainsi que d'autres Hémiptères, de Coléoptères et d'Arachnides. Un troisième type est représenté par les papillons (♀ : autosomes + XO ; ♂ : autosomes + XY). Enfin, les espèces à chromosomes sexuels multiples ne sont pas rares (cas des mantes, de drosophiles américaines et de certains Crustacés par exemple). Un tel phénomène peut apparaître chez des espèces du type XX et XY : ainsi, il existe une proportion d'hommes dont les cellules comportent trois hétérochromosomes.

— La *structure des chromosomes* est loin d'être évidente. En général, les colorations classiques par des laques, des bleus ou des violets basiques, le carmin ou même le réactif de Feulgen, ne donnent pas une idée précise de leur constitution. Quelques traits généraux peuvent cependant être notés sur le chromosome anaphasique, c'est-à-dire sur une chromatide. On y trouve deux *subchromatides,* généralement arrangées en spirale l'une autour de l'autre (Mickey, 1946). Mais cela ne peut se voir que chez des espèces à chromosomes de grande taille ; on a beaucoup utilisé la drosophile (cellules ganglionnaires) et des Orthoptères. Un Amphibien, *Ambystoma,* fut étudié par Creighton, et Fell et Hugues parvinrent même à observer des unités filamenteuses encore plus nombreuses dans les chromosomes anaphasiques de rate de souris en culture. Nebel, en 1941, obtint des résultats de même nature avec des plantes *(Tradescantia* et *Trillium) :* il trouva quatre éléments spiralés dans chaque chromatide, résultats confirmés, en 1963-1964, par Gimenez-Martin et Lopez-Saez grâce à l'*Endymion.* Le nombre des subchromatides ou des « mi-subchromatides » n'aurait aucun rapport avec le nombre de filaments d'ADN existant réellement (Manton). Dans la plupart des cas, l'étude précise est rendue très difficile par la présence de la *matrice* nucléoprotéique des chromosomes : les histones et les protéines acides masquent les structures.



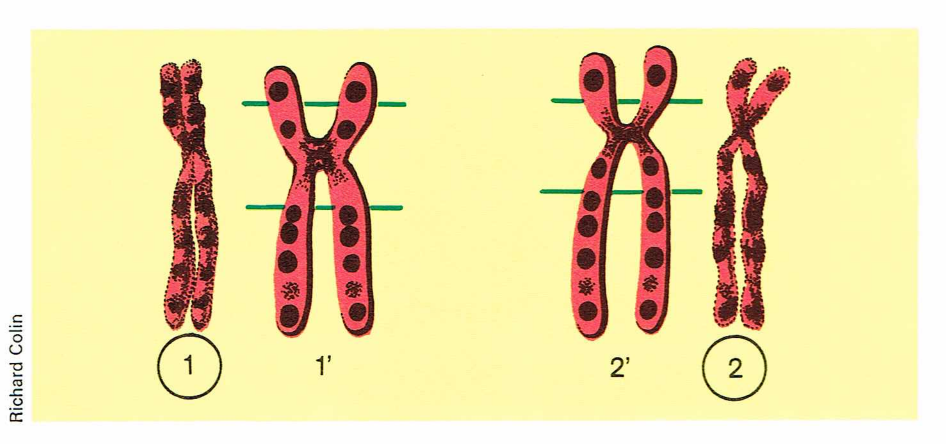


▲ ***En haut, représentation schématique de la forme de quelques chromosomes humains métaphasiques : M, métacentriques ; SM, submétacentriques, ST, subterminaux ; A, acrocentriques (ou terminaux). Les chromosomes humains sont au nombre de 44 autosomes (numérotés par paires) auxquels il faut ajouter deux chromosomes sexuels XX ou XY. En bas, organisation et structure hypothétique d'un chromosome ; la spiralisation mineure, serrée, entraîne un raccourcissement ; la spiralisation majeure, plus lâche, augmente encore la condensation de la chromatine.***

Pourtant, l'exemple des chromosomes polyténiques des Diptères peut donner une idée complémentaire sur l'arrangement de l'ADN. Dès 1933, Heitz et Bauer et, en 1935, Painter et Bridges montrèrent l'intérêt que présentent ces chromosomes géants ; on les voit facilement en extrayant les glandes salivaires des larves et en les montant entre lame et lamelle après coloration. Chaque chromosome est fait de disques empilés, alternativement clairs et sombres ; si l'épaisseur des disques est très variable tout au long du chromosome, *la topographie en est extrêmement précise pour une espèce donnée.* Pour environ 1,2 mm « de chromosome », on trouve en moyenne 6 000 disques (Bridges). Mais chaque disque sombre, ou *chromomère,* est fait d'éléments plus petits (Caspersson, 1936 ; Frey-Wyssling, 1953). L'analyse méticuleuse de ces chromosomes géants a permis d'établir des cartes qui servent de base pour l'étude des sites d'action des hormones et des inhibiteurs de la synthèse protéique (Ashburner, 1974).

On a, bien sûr, cherché à retrouver dans d'autres types de cellules, et chez de très nombreux êtres vivants, une structure chromosomique à bandes transversales. Elle peut parfois être entrevue en contraste de phase, mais en 1949, Chèvremont et Firket ont obtenu des résultats plus nets grâce à l'histochimie : la recherche de phosphomonoestérase alcaline permet d'obtenir une forte réaction des chromosomes, et l'on y décèle une série de bandes plus ou moins colorées ; cette enzyme, impliquée dans le renouvellement des acides nucléiques, permet donc de mettre en évidence l'hétérogénéité de la structure longitudinale des chromatides. On dispose maintenant de techniques encore plus significatives. On élimine, par un traitement des chromosomes à la trypsine, une partie de la matrice protéique puis on colore la chromatine,

Richard Colin

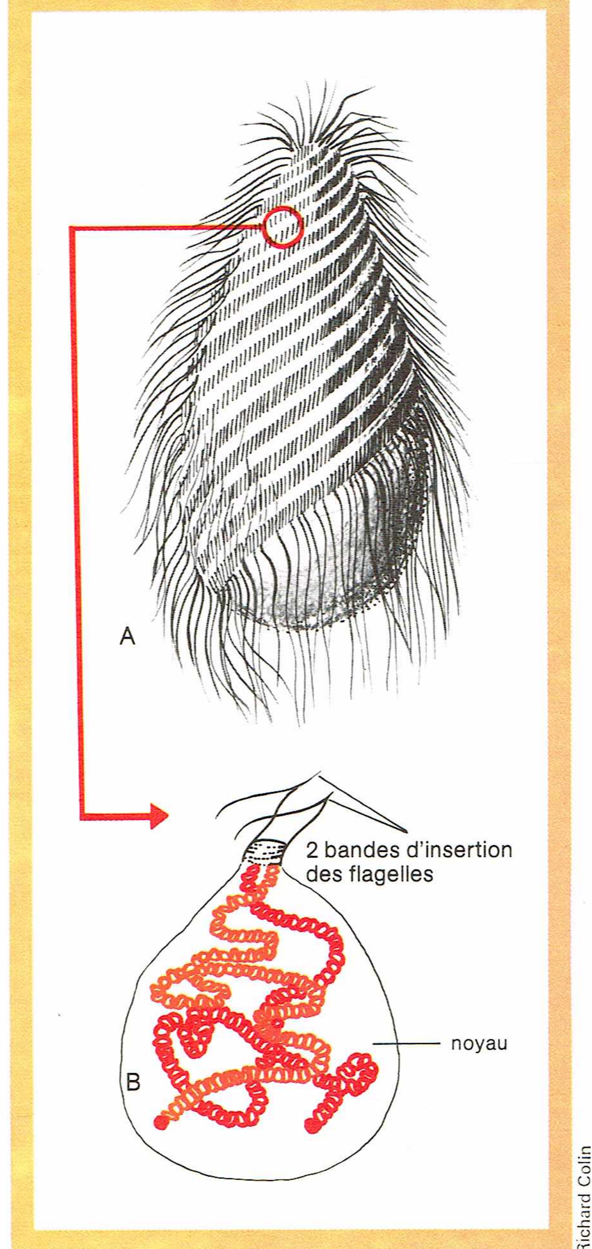


▲ *Aspects de chromosomes colorés après digestion partielle par la trypsine; les masses de chromatine sont réparties de manière extrêmement précise : 1, chromosome 5 de chimpanzé; 2, chromosome 5 de l'homme (d'après une préparation de de J. de Grouchy). Les schémas 1' et 2' précisent les différences notables entre les deux espèces : les chromocentres situés entre les traits verts sont inversés chez l'homme par rapport au chimpanzé.*

qui offre alors un aspect en chapelet (Trosko et Wolff, 1965). Selon de Grouchy, la chymotrypsine serait particulièrement active pour la digestion préalable : on peut obtenir, sur chaque chromosome, des bandes de coloration distincte, très caractéristiques de chacun d'eux (1974). Cependant, dès 1970, Caspersson et Zech, en Suède, étaient parvenus à faire apparaître de véritables topographies de bandes grâce à l'observation en lumière UV de chromosomes colorés par la quinacrine (antipaludéen) ; l'essor qu'a pris la recherche dans le domaine de la structure fine du chromosome dépend essentiellement des travaux de ces chercheurs, dont les résultats étaient, à l'époque, saisissants. En 1971, Dutrillaux et Lejeune obtinrent aussi d'excellentes images en traitant les chromosomes par la chaleur avant de les colorer. Ces techniques permettent l'analyse des anomalies de structure responsables de malformations de l'individu.

■ Le chromosome suit un cycle de *spiralisation* et de *déspiralisation* durant la mitose.

De Robertis, Nowinski et Saez ont précisé ce phénomène en 1965. A la prophase, chaque chromatide (ou ses sous-unités) s'enroule pour former une spirale « dont le pas est très petit ». Il y a donc raccourcissement de l'ensemble, ce qui donne la *spirale mineure*. Celle-ci s'enroule ensuite, beaucoup plus lâchement (moins de 30 tours), et donne la *spirale somatique*, ce qui aboutit à l'élaboration du chromosome métaphasique où la condensation de chromatine est maximale. Au voisinage du centromère, il n'y a pas de spiralisation somatique, et l'étranglement qui en résulte est parfaitement visible. La télophase est caractérisée par une déspiralisation progressive, qui devient « complète » à l'interphase (en fait, les chromocentres du noyau interphasique sont des portions de chromatides encore spiralées). Remarquons ici que, dès 1938, Cleveland avait décrit les deux types de spiralisation chez des Protozoaires Flagellés (Holomastigotoïdes) ; le matériel était particulièrement favorable puisqu'il y a très peu de chromosomes et qu'ils sont de bonne taille; mais ces résultats, qui portaient sur des êtres familiers pour les seuls spécialistes, n'ont pas suffisamment retenu l'attention des chercheurs.

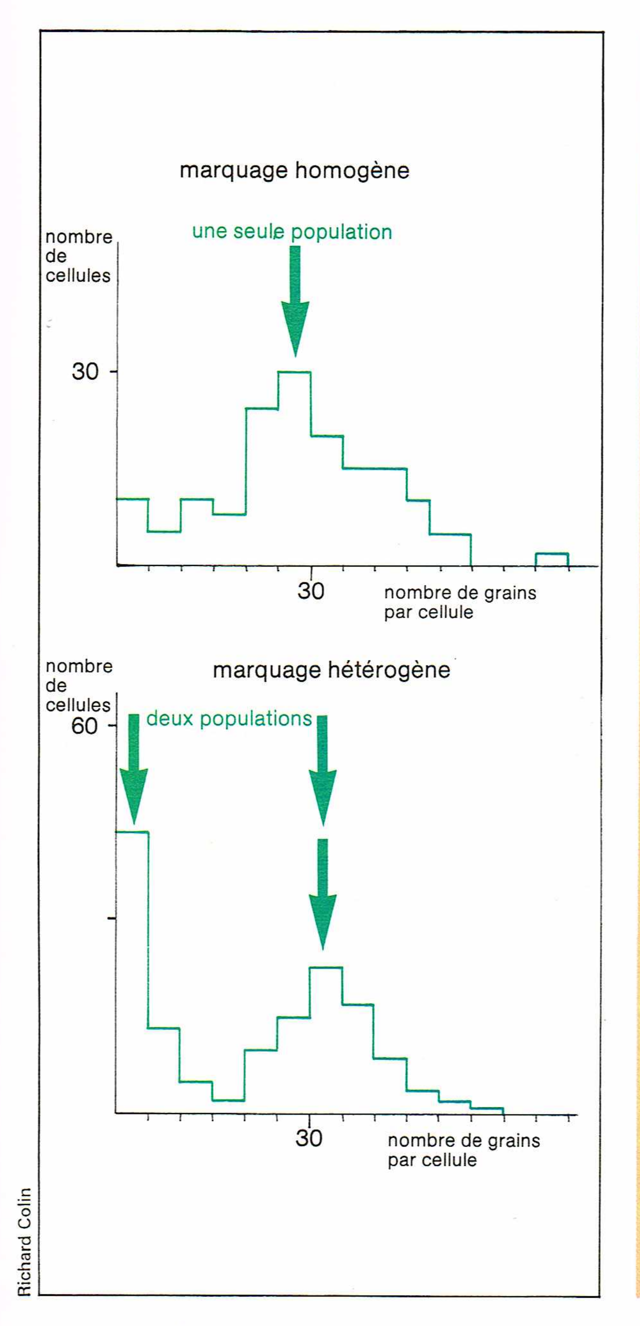


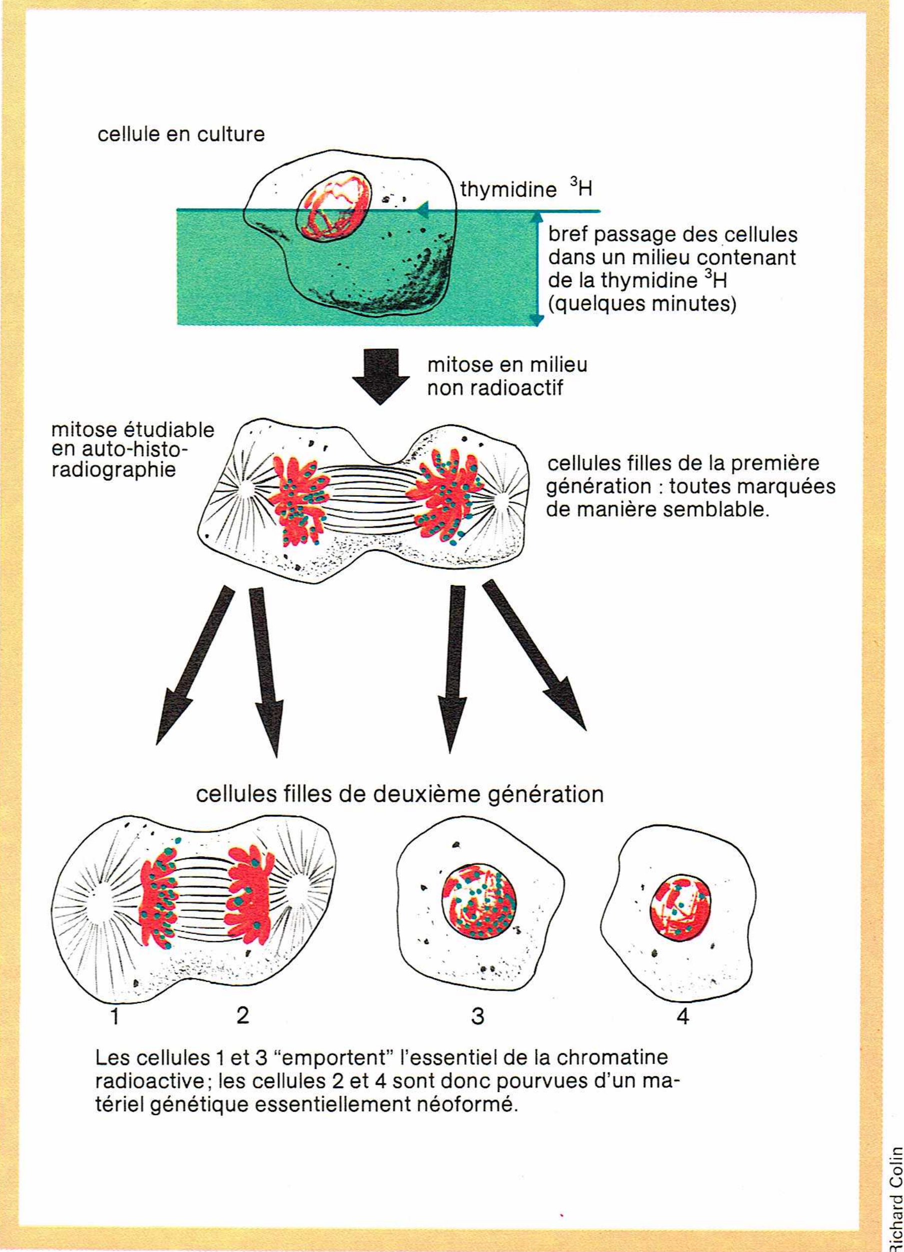
▶ *Représentation schématique de la spiralisation des chromatides chez un Flagellé Holomastigoïdes (Hypermastigines). A, aspect de l'animal; B, les 2 chromosomes se spiralisent ainsi dès le début de la prophase, il y a combinaison de deux spiralisations.*

▶ *Représentation schématique du cycle de spiralisation des chromatides (d'après De Robertis et coll.) : à l'interphase (in), chromosome à une seule chromatide (cm), à double hélice, déspiralisée sauf en certains points ou chromocentres (chr); la prophase (pr) suit la synthèse d'ADN et les deux chromatides se spiralisent progressivement (spiralisation mineure [spm]); à la métaphase (mt) une seconde spiralisation somatique se superpose à la première (sps); à l'anaphase (an), séparation des chromatides; à la télophase (tl), déspiralisation (desp).*

I.G.D.A.

L'asymétrie moléculaire des chromosomes. On pense généralement que, durant la mitose, l'ADN nucléaire se répartit de façon identique entre les cellules filles; il n'en est rien : la *répartition de l'ADN dans les cellules somatiques diploïdes est essentiellement asymétrique* (Lark, Consigli et Minocha, 1966). Le phénomène serait à la base du processus de différenciation et de l'équilibre de la croissance tissulaire. L'observation morphologique des chromosomes répartis dans deux cellules sœurs conduit à penser que les deux lots sont essentiellement symétriques. Pourtant, il existe des exceptions chez les végétaux (Stebbins, 1965) et chez certains Métazoaires inférieurs, voire même dans les cellules nerveuses des Vertébrés. Mais ces exceptions ne sont peut-être que des caricatures, très grossies, de ce que l'on trouve au niveau moléculaire chez l'ensemble des êtres vivants; l'existence d'une symétrie morphologique ne peut permettre d'exclure l'éventualité d'une asymétrie moléculaire. Résumons les faits observés par Lark et ses collaborateurs qui travaillaient sur des cultures de tissus primaires (cellules de départ prélevées directement sur l'animal) subissant un court marquage





à la thymidine ³H. A la seconde génération, qui se produit dans un milieu dépourvu de marqueur, on voit apparaître *deux populations* cellulaires; cela signifie que la répartition, à la seconde génération, de l'ADN marqué à la première génération, se fait de façon très inégale : les chromatides marquées des divers chromosomes *tendent à rester groupées* dans l'une des cellules filles de cette seconde génération. C'est là une preuve fondamentale de l'asymétrie constitutionnelle des chromosomes. Comme le souligne Odartchenko, « une division somatique peut parfaitement être asymétrique quant à l'âge relatif de l'ADN de deux cellules filles, alors que l'aspect morphologique de ces dernières est semblable ». Des conclusions de même nature peuvent être tirées des travaux de Cottier et ses collaborateurs (1964-1969), qui ont analysé le comportement de cellules érythropoïétiques marquées avant la première génération.

■ L'observation du *complexe astérien* et *fusorial*. On qualifie cet ensemble de *système achromatique*. La fixation, puis la coloration de la cellule, facilitent l'observation des *structures fibreuses,* qui se distinguent plus ou moins du reste du protoplasme. Suivant leur localisation, les fibres achromatiques sont dites *astériennes, continues, interzonales* et *chromosomiques*.

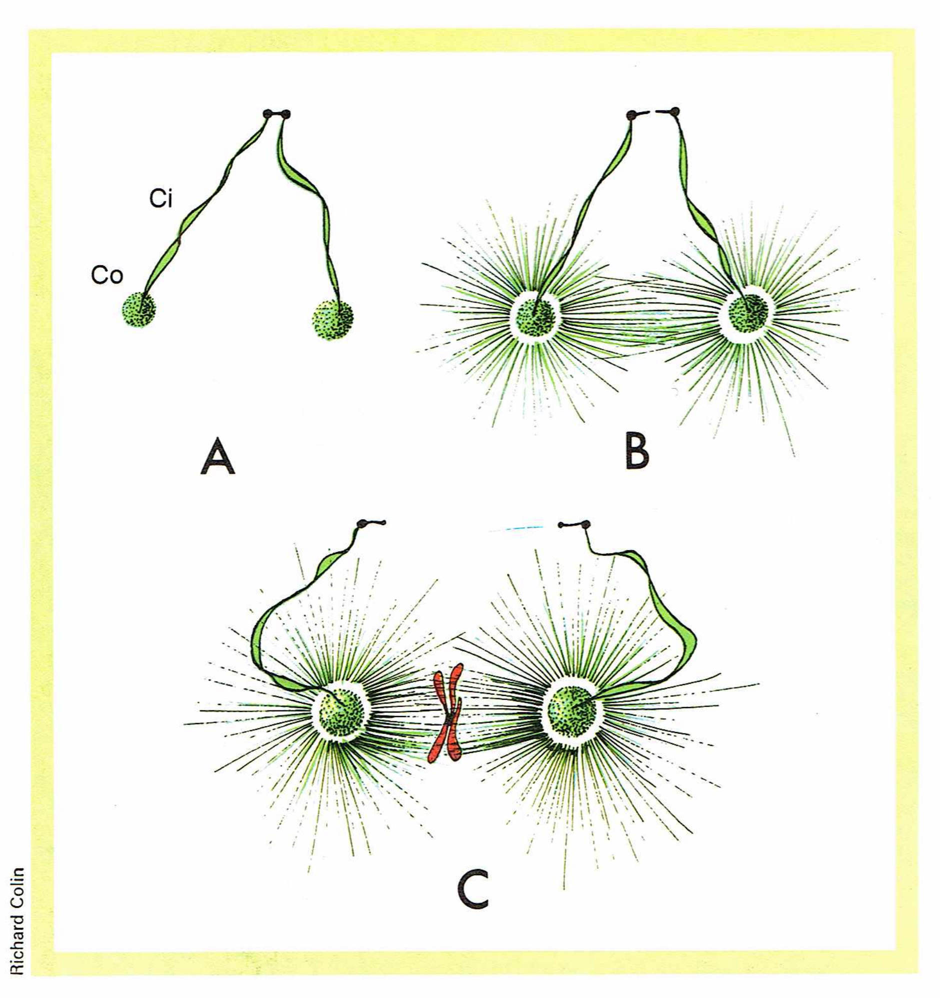
La coloration permet aussi de remarquer que les pôles d'une métaphase sont occupés par un *centriole,* ou *diplosome*. En effet, les colorants basiques permettent d'y mettre en évidence une certaine quantité d'ARN (Fautrez et coll., 1960). En fait, *la mitose débute par la division du diplosome* de la cellule interphasique.

Localisation du centriole.

La constitution du centriole interphasique a été décrite. Le centriole peut être très allongé chez divers Protozoaires Flagellés, tels que ceux qui vivent en symbiose dans le tube digestif de nombreux termites. C'est le cas de *Barbulanympha,* très bien étudié par Cleveland (1963). Selon ce dernier, aucune cellule ne montre le rôle des centrioles dans la production des figures achromatiques aussi clairement que *Barbulanympha*. En effet, ce cas permet de voir que l'ensemble du centriole n'est pas directement au centre des fibres astériennes; seul un point particulier, d'aspect hyalin, le *centrosome,* correspond au lieu de convergence des fibres; il s'agit d'abord des fibres astériennes, puis des fibres continues et chromosomiques. Le matériel est assez favorable pour que l'on puisse observer bien des détails sur le vivant. Cleveland rapporte qu'en 1931, il avait étonné, puis enthousiasmé, en leur faisant observer ses animaux, des sommités scientifiques de l'époque : Wilson, Morgan, Mac Clung et Conklin n'avaient jamais vu un tel système achromatique. Conklin parla même de faire du trapèze sur le fuseau — boutade significative !

▲ A gauche, histogramme correspondant aux résultats chiffrés de l'expérience de Lark et coll. sur une culture de cellules embryonnaires : à gauche, 24 heures après le bref passage dans la thymidine ³H, les chiffres montrent que la répartition de la radioactivité (nombre de grains d'Ag) est homogène dans la population de cellules filles (essentiellement 1ʳᵉ génération); à droite, plus tard, après la deuxième série de mitoses, les cellules constituent deux populations dont le marquage est très différent.

A droite, schéma de l'expérience de Lark et coll.; les grains verts correspondent aux grains d'Ag apparaissant dans l'émulsion.



▲ *Matériel achromatique de* **Barbulanympha** *(d'après Cleveland) : Ci, centriole très allongé; Co, centrosome autour duquel s'organisent les fibres astériennes puis fusoriales; A, dans la cellule en interphase; B, début de prophase; C, appareil achromatique durant la métaphase.*

Le centriole est un organite allongé, rubané, nettement spiralé. Selon Burke (1963), il y a une foule d'intermédiaires entre le centriole décrit par Porter (1957), Oberling et Bernhard (1961) dans les cellules de Vertébrés et celui de *Barbulanympha*. De plus, il existe des cellules qui sont dépourvues de centriole; c'est le cas de cellules des Myxamibes, des Myxomycètes et de Champignons; cependant, il serait remplacé, chez le Champignon *Neurospora* par exemple, par une plaque disposée à la surface de la cellule (Winckle et coll., 1971); d'autre part, chez le Myxomycète *Physarum,* Tanaka (1973) a repéré, en microscopie électronique, un organite peu structuré, logé dans une encoche de chaque noyau et qui joue le rôle de centre durant la mitose. Divers Champignons possèdent aussi des centres polymorphes rappelant celui de *Physarum*.

Avant la mitose, le centriole se divise; c'est-à-dire que l'on trouve alors deux diplosomes qui, par la suite, se repoussent et migrent pour former les deux pôles de la future mitose. Cette division centriolaire peut être extrêmement précoce; ainsi, elle se produit au milieu de la période G_1 chez certaines cellules observées en culture (Rattner et Phillips, 1973); la migration des diplosomes fils ne se produit qu'au début de la prophase. Cet exemple montre bien qu'il est très difficile de dire à quel moment commence vraiment la division cellulaire.

Il y a, autour des cylindres qui forment les centrioles, une condensation de molécules, nettement visible en microscopie électronique. On est encore mal renseigné sur la nature de cette condensation qui est assez structurée et comporte des bras courts à disposition rayonnante.

L'appareil achromatique.

L'appareil achromatique est fait d'éléments qui peuvent être isolés et manipulés par microdissection sous l'objectif du microscope. Il s'agit de fibres qui sont dues à la polymérisation d'un complexe protéique dissous dans le cytoplasme durant l'interphase. Divers travaux ont permis de faire le point sur cette polymérisation (Fauté-Frémiet, 1970; Dustin, 1972 et 1974).

Au « début » de la mitose, on constate que la région du centriole est plus visqueuse, plus ferme que le reste du cytoplasme; ensuite, pendant que se forment les asters, on perçoit très bien que ces éléments correspondent à des zones de cytoplasme ayant perdu toute fluidité; le fuseau lui-même apparaît nettement gélifié : grâce aux outils de microdissection, on peut l'étirer, dissocier les constituants, et même l'extraire.

L'extraction peut être effectuée sur des populations cellulaires par la méthode due à Mazia, qui employait des œufs d'oursins (1955). On fait agir sur les œufs une solution d'alcool et de digitonine; après avoir passé plusieurs semaines à — 10 °C dans le mélange, les œufs sont agités, et les appareils achromatiques se trouvent libérés, ce qui permet l'analyse chimique. Mazia put ainsi constater qu'il s'agissait de matériel protéique. Par une ultracentrifugation analytique, qui nécessite une redissolution dans un produit tel que le salyrgan ou le p-chloromercuribenzoate (Zimmermann, 1958), on peut mettre en évidence deux pics protéiques; de plus, on observe environ 6 % d'ARN associé (Zimmermann, 1963); il est donc bien évident que la composition de l'appareil achromatique n'est pas homogène. Rustad montra, en 1959, que l'ARN est particulièrement abondant au niveau des fibres interzonales de l'anaphase.

Après les travaux de Mazia et de son équipe, c'est seulement vers 1968 que les problèmes de la nature, puis des fonctions de l'appareil achromatique, furent mis à l'ordre du jour; ils le sont encore, et pour longtemps... On nomme *tubulines* les protéines du complexe isolé par Mazia et Zimmermann (Adelman, 1968). Bibring et Baxandall, en 1971, virent que celles-ci sont chimiquement liées aux protéines microtubulaires des flagelles de spermatozoïdes : en effet, leurs propriétés antigéniques sont voisines. Bryan et Wilson (1971) en montrèrent le caractère acide. Raff et Kaumeyer (1973) parvinrent à déterminer leur composition en A.A. : elles sont riches en diacides et en sérine, A.A. à radical alcool primaire, lequel permettrait une intervention de l'AMP cyclique sur le fuseau. Enfin, les radicaux SH y sont notables (Nickolson et Veldstra, ainsi que Hauser, 1972).

L'étude au microscope électronique permet de constater que les systèmes fibrillaires sont en fait constitués par des *microtubules* (MT). Autrement dit, les éléments astériens ou fusoriaux sont construits comme les unités fondamentales des centrioles. Tous ces MT sont formés de 12 ou 13 sous-unités, probablement disposées suivant une hélice (Porter, 1966; Olmsted et coll., 1971; Warner et Satir, 1973); chaque MT est donc un hétérofilament. La formation des MT s'effectuerait sous la dépendance de facteurs dits de nucléation (Borisy et Olmsted, 1972). La notion n'est pas encore très précise. Les tubulines dissoutes dans l'ensemble de la cellule et qui forment un *pool,* un *stock,* disponible pour la mitose, sont assemblées au voisinage de *centres organisateurs* plus ou moins connus; quoi qu'il en soit, il apparaît que les MT se forment à la périphérie du centrosome et qu'ils prennent contact avec les centromères qui relient les chromatides d'un chromosome. Durant une bonne partie de la mitose, les centromères restent accrochés aux MT.

Deux observations doivent être soulignées. La première concerne la disposition précise des microtubules les uns par rapport aux autres; la seconde correspond aux rapports MT astériens-membrane nucléaire durant la migration des centrioles fils.

— En étudiant au microscope électronique les MT métaphasiques de l'ovocyte de souris, Burkholder (1972) a mis en évidence des *ponts,* régulièrement espacés, reliant des MT parallèles. Ces ponts ont le même aspect que les MT eux-mêmes. Turner (1972) a montré, dans le testicule de *Gerris,* l'existence d'« expansions courbes » des MT fusoriaux qui peuvent relier plusieurs de ces microtubules. D'après Mac Kinnon et ses collaborateurs (1973), le manchon périnucléaire de microtubules qui s'élaborent avant la métaphase de cellules sexuelles mâles du rat comporte des « ponts entrecroisés » qui relient ces éléments. Comme des ponts on été découverts entre les MT de l'axostyle des Flagellés (Mac Intosch, 1969), on peut penser qu'il y a une certaine uniformité dans les dispositions relatives des MT qui sont impliqués dans des mouvements intracellulaires évidents. Il en est de même dans le cas de MT qui s'étendent tout au long

des axones des cellules nerveuses; or, il y a un transport de vésicules de sécrétion vers l'extrémité des fibres motrices; dans ce dernier cas, Burton et Fernandez (1973) sont parvenus à montrer que les ponts seraient de nature polysaccharidique, et porteurs de charges anioniques fort nombreuses, auxquelles vient se lier une grande quantité d'ions Ca^{++}.

— Favard, d'autre part, souligne que, durant la migration des centrioles fils, on peut observer, en face de chacun d'eux, une dépression de la membrane nucléaire; les MT astériens semblent repousser cette membrane. Cette observation doit être rapprochée de celles, plus anciennes, de Fell et Hugues, de Smith et de Hughes-Schrader (1943-1949) : pour ces auteurs, les pôles astériens agissaient directement sur le noyau et même sur les chromosomes, dont ils déterminaient le *groupement* à la prophase, du moins dans les cas où leur nombre n'est pas trop élevé. Ces deux résultats montrent que les pôles ont une influence importante sur le comportement du noyau et de ses organites.

● *Données physiologiques et ultrastructurales résultant de l'étude du cytoplasme durant la mitose.*

Ces données sont de nature diverse : mesures de viscosité, de perméabilité, d'intensité respiratoire; observation de la plasmodiérèse, de la croissance du plasmalemme, etc.

Quelques remarques préliminaires.

La morphologie de la cellule en division se modifie toujours; il y a une tendance à l'arrondissement, qui devient très net à la prométaphase. Si la cellule possède des cils, on constate qu'ils peuvent se résorber; c'est le cas des cellules œsophagiennes (Kindred, 1927) ou des Ciliés Hypotriches étudiés par Stein dès la fin du XIXe siècle; les autres Ciliés montrent aussi une régression de leurs organes locomoteurs durant la mitose. Dans l'ensemble, les phénomènes d'excrétion ou de sécrétion se trouvent ralentis ou arrêtés. Nous savons également que la structure des mitochondries se modifie. On doit donc s'attendre, en étudiant la physiologie du cytoplasme d'une cellule en division, à constater d'importantes variations.

Variations de viscosité.

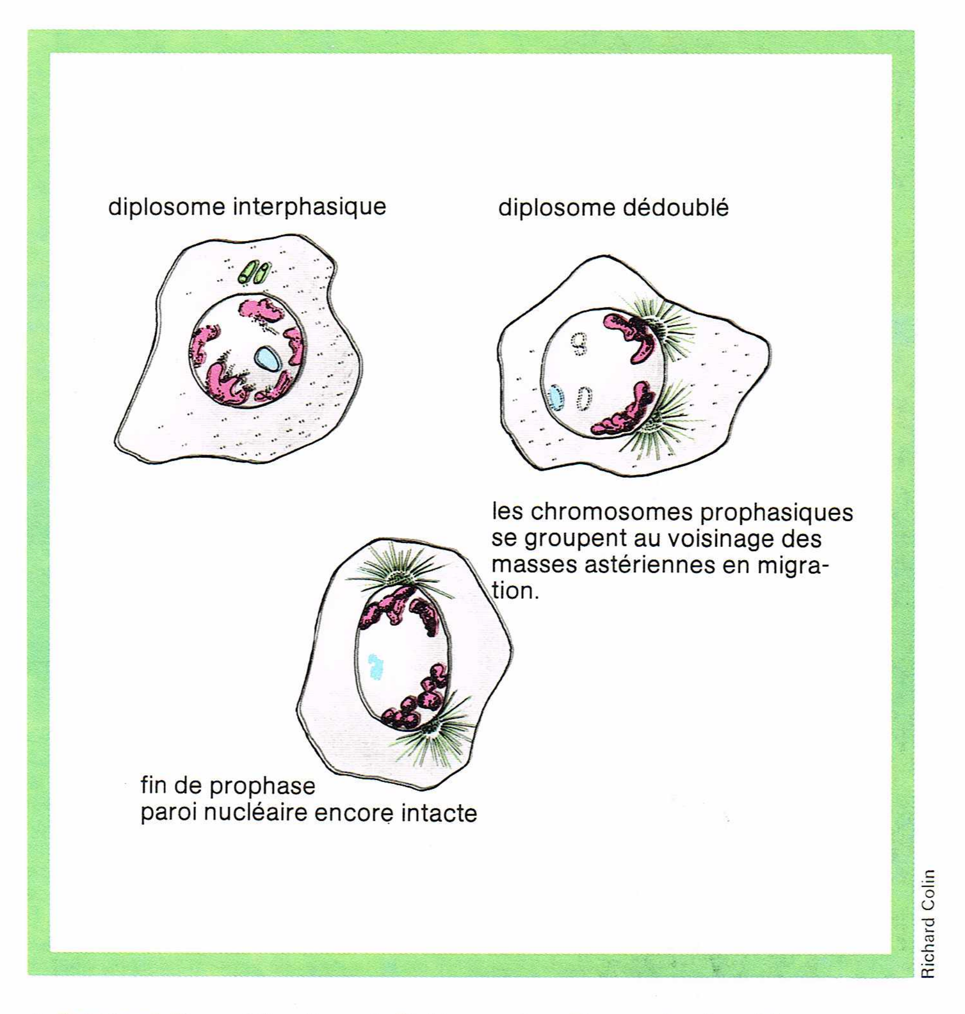
Dès la fin de la prophase, la viscosité générale du cytoplasme diminue (Heilbrunn, 1921; Carlson, 1946). Les mesures peuvent être faites par l'étude du mouvement brownien, de la cyclose ou de la vitesse de sédimentation des organites de cellules centrifugées. Par contre, la viscosité est fortement augmentée, à l'anaphase, dans la région interzonale, entre les deux lobes de chromosomes. Pour Spek (1923) et Bujard (1941), la mitose est la conséquence de changements d'état physique du cytoplasme. De fait, une augmentation de pression du milieu ambiant induit un arrêt de la multiplication cellulaire (Marsland, 1942).

Variations de perméabilité.

Elles ont été mesurées par diverses techniques (Herlant, 1920; Lillie, 1916). Les résultats ne concordent pas toujours; souvent, la cellule qui va se diviser devient beaucoup moins perméable, et le phénomène inverse se produit à la fin de l'anaphase, juste avant le clivage. La plupart des travaux ayant trait à ces variations ont été faits sur des œufs; mais il s'agit comme nous le verrons d'un matériel extrêmement spécial. En 1973, Stalk et Warner, qui travaillent sur l'œuf de xénope, ont pu montrer que les cellules sont assez peu sensibles aux variations du taux de Na^+ et K^+ dans le milieu : le potentiel de membrane n'est pas modifié durant les premières phases de la mitose, mais il l'est, *au début du clivage*, par le potassium. Ce résultat est très significatif : il montre que la membrane *néo-formée* qui se constitue dans le sillon de clivage n'a pas la même perméabilité que le reste du plasmalemme de la cellule en division.

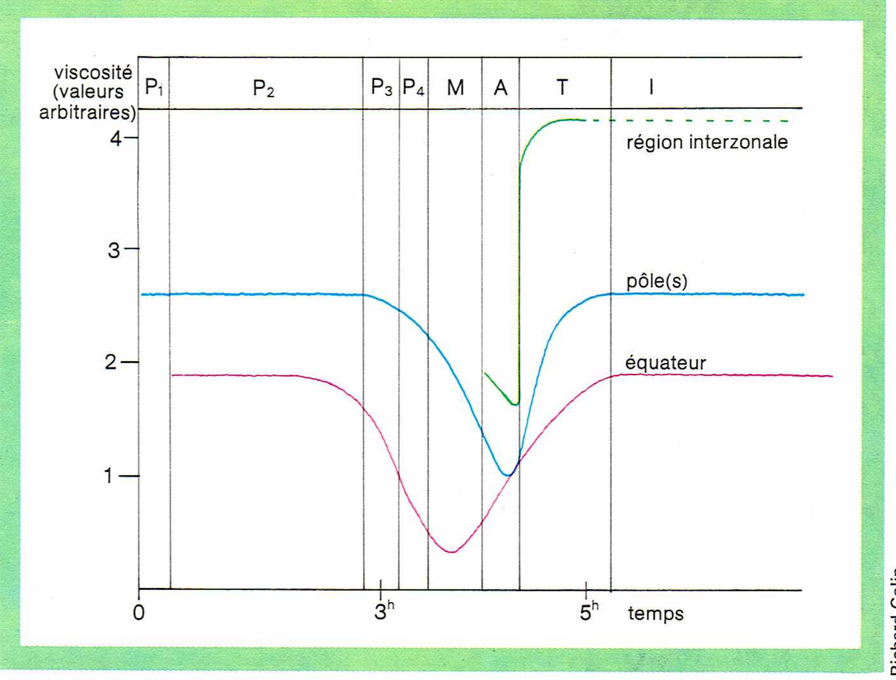
Variations de l'activité respiratoire.

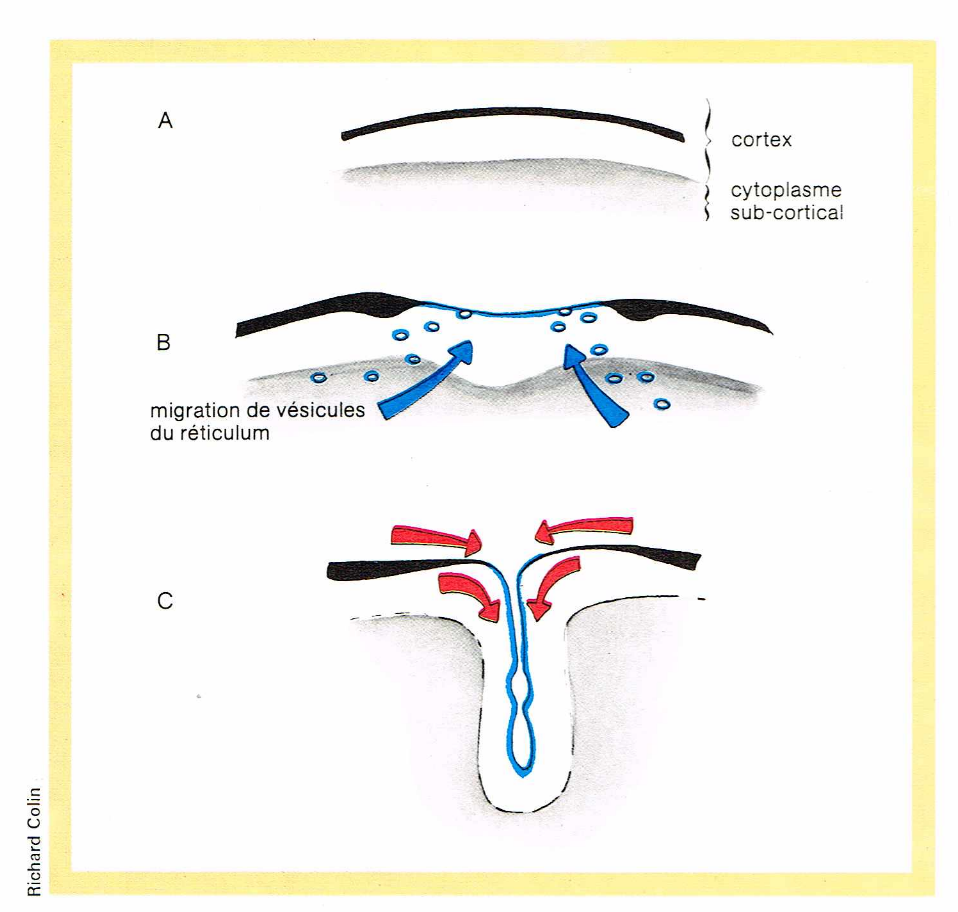
Selon Chèvremont, il y aurait, à la prophase, une tendance à l'asphyxie de la cellule, avec accumulation de substances toxiques résultant du métabolisme. Il note, de plus, que l'augmentation expérimentale du taux de CO_2 dans le milieu provoque l'apparition *précoce* de figures astériennes. Réciproquement, l'excès d'oxygène est toxique pour la mitose dans les cultures de tissus (Frédéricq, J. Bouchard), ainsi que durant le développement de l'œuf d'ascidie (Bouchard, 1966). L'asphyxie favoriserait la « coagulation » des colloïdes ou, du moins,



▲ *Représentation schématique de l'***influence des pôles** *sur la répartition des chromosomes dans certaines cellules animales (spermatocyte d'Invertébré). Selon Schrader et Hughes, divers résultats de cette nature montrent que les pôles ont un effet sur les chromosomes bien avant la métaphase.*

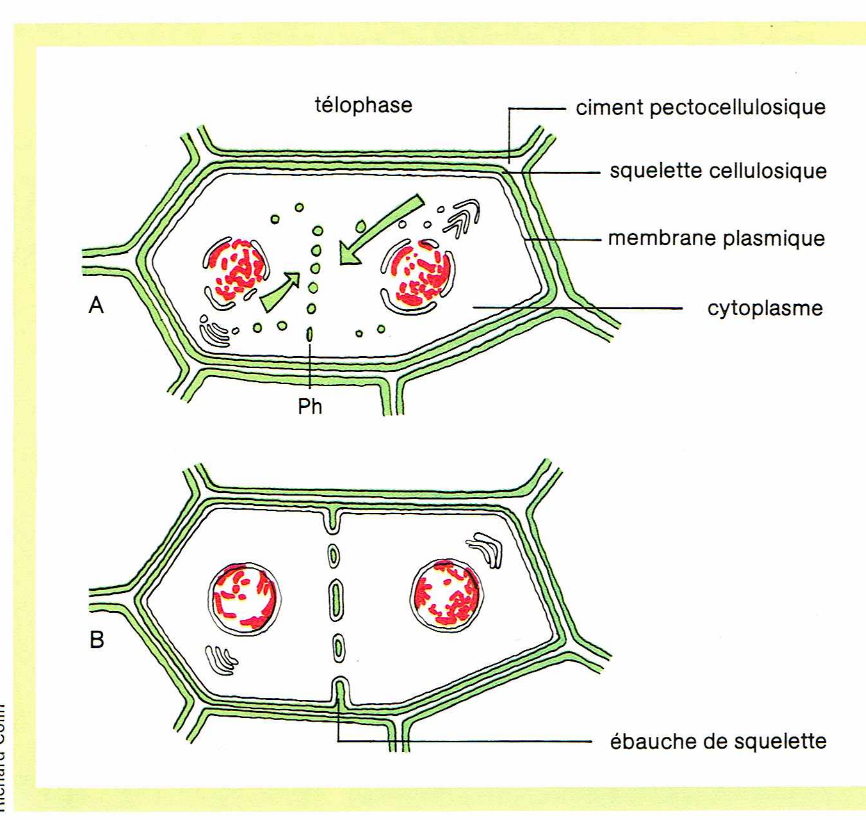
▼ **Variations de viscosité** *durant le cycle de la cellule (cellule nerveuse d'Insecte) : $P_1 \rightarrow P_4$, stades de la prophase; M, métaphase; A, anaphase; T, télophase; I, interphase. On notera que, dès la fin de la prophase, la viscosité générale du cytoplasme diminue (d'après Carlson).*





▲ ***Représentation schématique de la formation du* sillon *de clivage télophasique (cas de l'œuf) : A, cortex de l'œuf avant la division; B, formation du présillon dépigmenté; C, début du clivage avec invagination du cortex et du plasmalemme néo-formé.***

▼ ***Représentation schématique du* principe *de la* cytodiérèse *chez les végétaux supérieurs : A, formation du phragmoplaste (Ph) à partir des vésicules golgiennes; B, la soudure des vésicules et la coalescence des produits de sécrétion permettent la formation des membranes et du cytosquelette.***



pourrait modifier localement l'équilibre sol-gel. A l'anaphase, le plasmalemme devenant perméable au CO_2 endogène ainsi qu'aux substances de déchets, l'équilibre sol-gel tendrait à se rétablir.

Cependant, l'oxyde de carbone peut inhiber la division de *certains* œufs (Brachet, 1934; Hörstadius, 1940). Les agents qui bloquent les phosphorylations semblent plus efficaces : le dinitrophénol empêche la mitose au moment de la prophase ou lors du clivage (Clowes et coll., 1934 à 1950; Brachet, 1951-54). Slack et Warner (1973) constatent pourtant que le DNP ou des cyanures n'agissent pas sur la mitose de l'œuf de xénope; toutefois, l'*injection* de DNP dans le milieu intercellulaire, proprement intra-embryonnaire, bloque totalement le développement.

L'ensemble de ces observations montre bien que le problème de l'activité respiratoire durant la mitose est encore entier.

Étude particulière du cytoplasme cortical et du sillon de plasmodiérèse.

Les caractères physico-chimiques du cytoplasme cortical sont assez différents suivant qu'il s'agit d'un œuf, d'une cellule animale ou d'une cellule végétale.

— *Dans le cas de l'œuf,* un certain nombre de résultats peuvent être signalés. Travaillant sur l'œuf de l'oursin *Arbacia,* Brown, en mesurant la viscosité du cortex en fonction du degré d'avancement de la mitose, put constater que cette viscosité devenait subitement plus grande quelque temps avant le clivage (1934). Oddo et Esposito sont parvenus à montrer, chez plusieurs espèces d'oursins, que du potassium entre dans la cellule après fécondation, puis qu'il en sort peu après et que, par la suite, cet ion pénètre de nouveau, atteignant une concentration maximale au moment du clivage (1951). Divers auteurs ont estimé que des mouvements de calcium se produisent au sein de l'œuf durant la division. Heilbrunn et Wilson, en 1949, estimaient que les augmentations de viscosité du cortex puis du reste du cytoplasme étaient en rapport direct avec la concentration de Ca^{++}; corrélativement, l'héparine, antagoniste de cet ion, empêche la gélation et, secondairement, le clivage de l'œuf d'un Ver marin *(Chaetopterus).* De ces travaux, comme de ceux de Mazia et de Shapiro effectués sur *Arbacia,* il ressort que l'ion calcium joue un rôle essentiel dans la division de l'œuf d'animaux marins; ce fait est maintenant confirmé.

Dans le cas des œufs qui se développent en eau douce, on connaît surtout le comportement de l'œuf d'Amphibien. Sentein, en 1961, a montré que le cytoplasme cortical est directement influencé par la *croissance des MT astériens,* qui est maximale juste avant le clivage : la membranogenèse serait la continuation de la fibrillogenèse astérienne centrifuge. Dès 1937, Schechtman avait montré que le cortex est constitué de deux couches, dont seule la plus externe est pigmentée; selon lui, la formation du sillon se fait en deux temps : constitution d'un présillon dépigmenté, puis invagination du cytoplasme cortical gélifié et dépigmenté. Pour Sentein, les deux phénomènes sont, comme nous le verrons plus loin, de nature différente : le deuxième temps est dépendant des MT astériens (1961). Durant le premier temps, l'apparition du sillon dépigmenté est due à la coalescence de nouveaux éléments membranaires qui s'adjoignent, à ce niveau, à la membrane préexistante (Selman et Waddington, 1955; Zotin, 1969). L'utilisation du microscope électronique permet de voir que des vésicules du réticulum endoplasmique s'incorporent au plasmalemme : c'est le phénomène d'*exocytose* (Thomas, 1968; Arnold, 1969; Fullilove et Jacobson, 1971; Gwynn et Jones, 1972). Il y aurait aussi insertion directe de molécules précurseurs de la membrane (Bluemink, 1970-71). Le deuxième temps du clivage peut être perturbé par des agents toxiques, tels que le phényluréthane (Sentein, 1961) ou la cytochalasine B (Bluemink et de Laat, 1973); dans ce cas, le sillon ne s'invagine pas, et la zone dépigmentée s'élargit par adjonction de matériel membranaire. *Quelques minutes après la formation du sillon dépigmenté,* le potentiel membranaire augmente brutalement, ce qui implique une augmentation de la perméabilité (Woodward, 1968; de Laat et coll., 1973).

— *Dans le cas* d'autres types de cellules animales, on possède fort peu de documents sur leur clivage et, à plus forte raison, sur leur cortex. Buck et ses collaborateurs ont obtenu, en 1962-1964, la preuve que des vésicules

détachées du réticulum permettent l'accroissement de la membrane durant la mitose des Amphibiens ou des Mammifères. Pour Rappaport (1971), les molécules synthétisées dans le hyaloplasme joueraient un rôle important. Le mode de séparation des cellules est très différent de ce que l'on observe dans le cas des œufs : les cellules filles s'éloignent progressivement l'une de l'autre, tandis que la nouvelle membrane se constitue. Cela est particulièrement net dans le cas des fibroblastes en culture (Gray, 1931 ; Hugues et Swann, 1948). Autre point très notable, les asters sont de petite taille. Enfin, dès l'anaphase, on note un « bouillonnement » cytoplasmique *(bubbling)* dont l'existence est assez rare dans le cas des œufs ; ce phénomène est mal connu.

— *Chez les végétaux,* le clivage s'effectue de manière très différente. Les éléments de la nouvelle membrane sont synthétisés au niveau des systèmes cavitaires, puis transportés dans des vésicules golgiennes, qui s'aplatissent, s'alignent puis se soudent, formant ce que l'on nomme le *phragmoplaste,* particulièrement bien développé chez les plantes à fleurs.

Ces faits montrent bien que la mitose peut être extrêmement différente suivant le type de cellule observé.

L'analyse expérimentale de la mitose : radiations et antimitotiques

La cellule vivante est sensible à divers facteurs, physiques ou chimiques. La réaction globale peut être une perturbation métabolique plus ou moins importante ou une dégénérescence totale avec destruction et nécrose des organites. C'est durant la mitose, plus précisément au « début » de la division, que la sensibilité cellulaire est maximale. Certains facteurs vont affecter la synthèse d'ADN durant la phase S prémitotique, d'autres vont empêcher la formation du fuseau, etc. En comparant le mode d'action de différents facteurs utilisés à des moments différents de la mitose ou des synthèses qui la précèdent, il devient possible de disséquer le phénomène et de tenter de l'interpréter.

● *Certains facteurs modifient essentiellement l'équipement chromosomique de la cellule.*

Il peut s'agir de facteurs physiques ou chimiques, dont l'action est maximale durant la phase S (phase de synthèse d'ADN nucléaire).

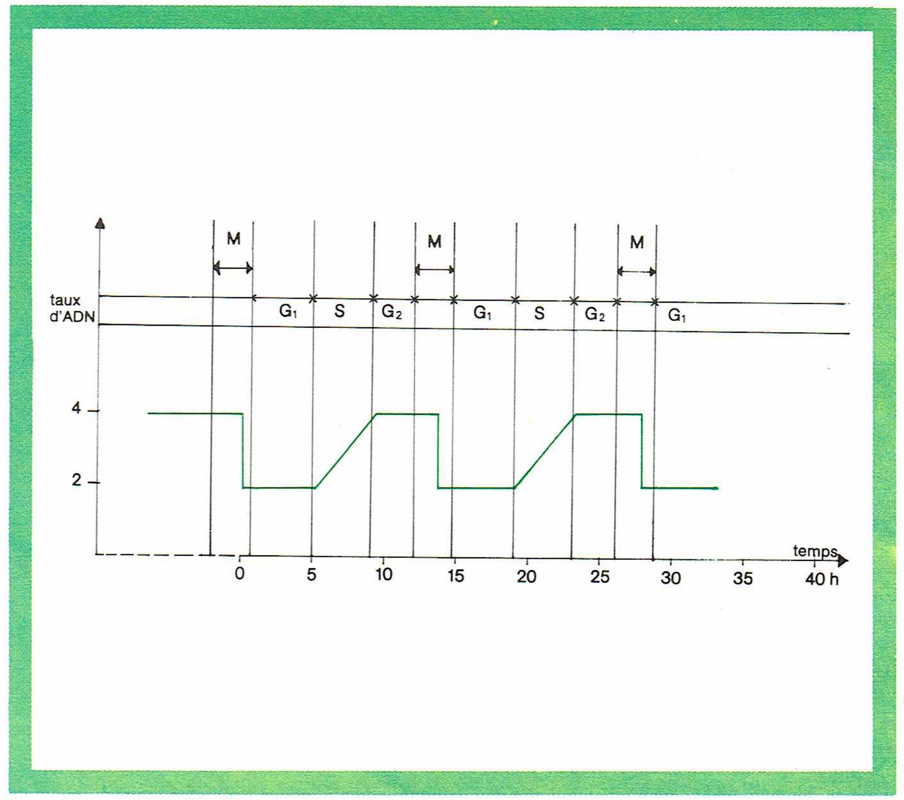
— Le cas des *radiations ionisantes* est bien connu. Les rayons X et les rayons γ provoquent des aberrations de la disposition des nucléotides de l'ADN ; la cellule subit des *mutations,* et la structure des chromosomes peut aussi être fortement altérée ; les radiations provoquent des *crossing-over,* des *cassures* de chromatides avec délétion de certains éléments qui peuvent, dans d'autres cas, se souder sans ordre sur d'autres chromatides. Les coupes histologiques d'organes irradiés contiennent des mitoses qui sont, très généralement, anormales : on peut ainsi constater des « collages » de chromosomes, ou des cassures ; dans le premier cas, les deux lots de chromosomes anaphasiques ne parviennent pas à se dissocier complètement, et des « fils » de chromatine traînent dans la région interzonale ; dans le deuxième cas, des fragments de chromosomes demeurent également dans cette région, mais sans aucun lien avec le reste de la chromatine, et peuvent aussi être éliminés et rejetés dans le hyaloplasme qui baigne le fuseau. Si les doses sont plus fortes, la mitose ne se fait pas ; quand elle s'ébauche, on constate que les noyaux sont généralement très hypertrophiés, les cellules présentant un aspect « pseudoprophasique » (Bloom). Dans un noyau prophasique, les chromosomes sont souvent hypochromatiques, très hétérogènes, voire vacuolisés. Dans le tissu irradié, la dégradation peut être plus ou moins importante et, en utilisant des doses répétées, il est possible de détruire quasi totalement une portion d'organe sur laquelle on a focalisé le rayonnement. Celui-ci agit indifféremment sur les cellules saines et les cellules tumorales (Bacq et Alexander).

— De très nombreuses substances chimiques, parfois appelées *radiomimétiques,* peuvent avoir des effets semblables. C'est le cas des *ypérites* (Hughes et Fell, 1949 ; Sentein, 1955-1957, etc.). Comme dans le cas des radiations ionisantes, si la lésion mitotique n'est pas trop intense, les cellules filles se forment et présentent une structure nucléaire aberrante. Chacune d'elles peut contenir plusieurs noyaux qui correspondent aux différents « paquets » de chromosomes, dont la migration a été normale ou non ; les « micronoyaux » peuvent être nucléolés. Divers *alkylants* à propriétés mutagènes peuvent avoir le même type d'action ; c'est le cas du myleran, étudié par Chèvremont et ses collaborateurs (1959), ou de la sarcolysine (Bassleer et Desaive, 1971).

— Le cas des *antimétabolites* est un peu différent : ces substances introduisent des perturbations dans la synthèse de l'ADN, et, secondairement, à l'anaphase empêchent les chromosomes de migrer normalement. Dès 1954, Jacobson ainsi que Benitez et ses collaborateurs avaient montré que les antifoliques bloquent la mitose en moins d'une heure ; or, le temps qui sépare S de la métaphase est toujours nettement plus long ; on peut donc en déduire que les antimétabolites agissent aussi sur le mécanisme de migration chromosomique de l'anaphase. Selon Biesele, le mouvement serait inhibé par un trouble initial des synthèses d'ATP nécessaires pour l'activation du fuseau ; l'atteinte initiale serait mitochondriale. Cela montre à quel point il est difficile de juger précisément du mode d'action d'un antimitotique.

Depuis plusieurs années, divers antimétabolites sont utilisés en chimiothérapie anticancéreuse ; on estime en effet que les cellules tumorales ont une susceptibilité particulière vis-à-vis de ces substances (Biesele, 1961). Cela tiendrait au fait que le caryotype des cellules tumorales est généralement bien différent de celui des cellules normales homologues et que, de toute manière, la population de cellules d'une tumeur est hétérogène, le caryotype de chacune des cellules étant très variable (Hauschka, 1958 ; Biesele et coll., 1959, etc.). On pense que, dans ces conditions, les antimétabolites peuvent agir différemment sur les cellules normales et tumorales. L'utilisation d'antimitotiques pour un but thérapeutique est toujours une affaire délicate : chaque type de tumeur possède des caractères qui la rendent sensible à telle substance plutôt qu'à telle autre ; l'hétérogénéité est si poussée qu'une tumeur de même nom peut réagir de façon différente d'un individu à l'autre. Il faudrait donc « tester » préalablement la sensibilité de fragments de la tumeur, maintenus en culture *in vitro,* vis-à-vis d'antimétabolites ou de radio-mimétiques ; on serait alors en mesure de choisir le traitement approprié (Bickis, Henderson et Quastel, 1966). Les faits montrent que des agents antimitotiques peuvent agir préférentiellement

▼ Cycle d'une cellule *en culture (fibroblaste de poulet). Noter la longueur de la phase de synthèse de l'ADN qui dure 4 à 5 heures ; ensuite, la cellule reste « en attente » pendant plusieurs heures avant de se diviser (d'après Bassleer).*



sur des cellules tumorales, donc sur *certains types de chromosomes* plus ou moins anormaux. L'efficacité des antimétabolites dépend aussi de *conditions enzymatiques :* les cellules tumorales sont souvent plus pauvres en enzymes ; si des enzymes du catabolisme des purines, des pyrimidines ou des amino-acides aromatiques viennent à manquer, il est bien évident que les antimétabolites, qui sont des analogues de ces corps, ne seront pas détruits dans les cellules tumorales appauvries (Baker, 1959).

— Comme Sentein l'a bien mis en évidence, en 1961, dans ses expériences sur l'œuf d'Urodèle, la plupart des agents chimiques qui lèsent les chromosomes peuvent aussi modifier l'activité de l'appareil achromatique. L'effet sur l'ADN peut être mesuré. Chèvremont et ses collaborateurs ont montré, par dosage cytophotométrique, l'intensité des dégâts causés par le DG 428 de Bayer ; cet antimétabolite est utilisable sur divers types de cellules tumorales (Westphal et Bierling, 1959) ; Chèvremont a constaté que, *in vitro,* la réaction de Feulgen devient quasi nulle après quelques jours de traitement. Selon Bassleer et Chèvremont (1973), il resterait cependant des ADN nucléaires, mais ceux-ci seraient profondément anormaux.

— Par contre, certaines substances, fort nocives pour la mitose, peuvent augmenter considérablement la teneur en ADN des cellules traitées. C'est le cas du myleran (Chèvremont et Bassleer, 1968), avec lequel des fibroblastes en culture deviennent octoploïdes ou hexadécaploïdes (16 *n*). Les cellules, bien qu'énormes, peuvent demeurer viables, ce qui, évidemment, est un inconvénient fondamental pour l'utilisation thérapeutique du produit en question. Des effets de même nature sont également observés avec d'autres corps (la mitomycine C, le melphalan, la sarcolysine, la daunomycine ou l'actinomycine D). Cela montre que l'utilisation de tel ou tel antimitotique doit être précédée d'un grand nombre de recherches destinées à évaluer, dans différentes conditions, et parfois avec des matériels biologiques très inattendus, quels peuvent être les effets *majeurs* et *mineurs* du produit. On utilise maintenant des « cellules-tests » de nature très variée : fibroblastes, souches tumorales (cellules *Hela*) connues dans le monde entier, épiderme de la queue de triton, épiderme de souris, œuf d'Amphibien, plasmodes de Myxomycètes, Algues unicellulaires, etc. L'œuf d'ascidie peut également être un bon matériel (Reverberi ; J. et C. Bouchard).

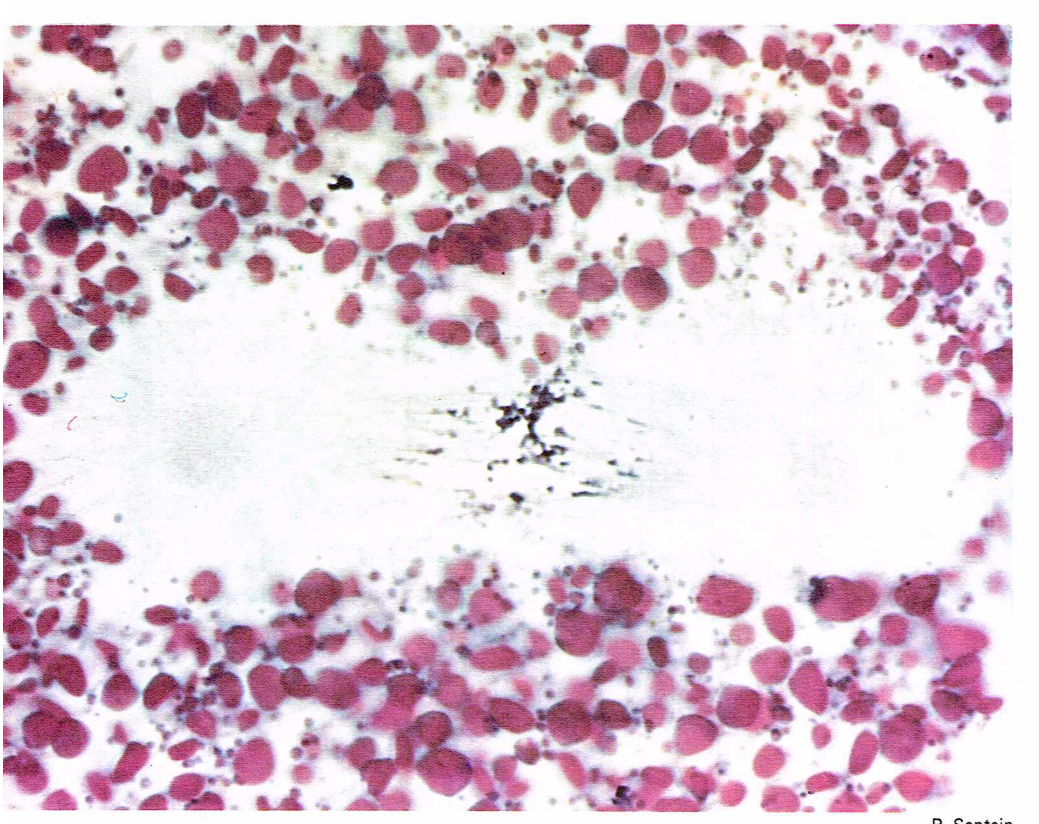
— Un certain nombre de substances peuvent provoquer des aberrations nucléaires qui ne sont pas toujours évidentes. Les résultats sont moins spectaculaires que dans les cas précédemment évoqués ; les effets se traduisent par une impossibilité, pour les cellules, d'entrer en mitose. Hughes et l'équipe de Chèvremont ont ainsi pu constater que des corps de nature très différente provoquaient des inhibitions des synthèses d'ADN, d'ARN ou des protéines qui leur sont associées. Le blocage se fait durant la phase S du cycle ou en « post-synthèse » (G_2) ; en effet, la formation de l'ADN et des protéines basiques (histones) s'effectue parallèlement, ce qui n'est pas le cas des protéines acides, synthétisées durant une bonne partie du cycle de la cellule. Comme la chromatine, le nucléole est très sensible. Fait remarquable, les mitochondries des cellules traitées montrent souvent des aberrations structurales ; en particulier, leur ADN devient franchement décelable par la réaction de Feulgen ; quant à l'importance de telles perturbations, observées depuis 1953 dans le laboratoire de Chèvremont, il sera impossible de la mesurer tant qu'on ne connaîtra pas les rôles précis de l'ADN mitochondrial.

● *Il existe des substances dont l'action antimitotique primitive est de désorganiser l'appareil achromatique.*

La **colchicine** est une des substances antimitotiques les plus anciennement connues. Pernice, en 1889, constata qu'une décoction du colchique *(Colchicum automnale)* pouvait provoquer une augmentation très importante du nombre de métaphases observables dans l'épithélium du tube digestif. Dustin, en 1934, tenta d'approfondir la question et suggéra que la substance pouvait provoquer *l'apparition de nouvelles mitoses ;* comme l'effet du colchique était extraordinaire, il y avait tout lieu d'entreprendre une étude précise de cet excitant mitotique. Or, peu de temps après la caractérisation de l'alcaloïde responsable, Dustin et son équipe se rendirent compte que la colchicine a seulement pour effet de *bloquer les mitoses en métaphase,* celles-ci s'accumulant ainsi dans les organes traités ; le processus est qualifié de *stathmocinèse*.

On a d'abord pensé que la colchicine ne modifiait pas la prophase. De fait, en 1952, en cinématographiant des cultures de tissus, Bucher vit que la prophase n'était pas nettement perturbée. Mais de fortes doses provoquent un retour en arrière des prophases (Eigsti, 1949) ou, dans certains cas, en fin de prophase, un blocage extrê-

▼ ***A gauche, œuf d'Urodèle traité par la* triéthylène mélamine *(TEM). Les chromosomes sont fragmentés et migrent anormalement durant l'anaphase ; l'appareil achromatique ne subit pas de modifications notables (coloration de Flemming ; en rouge, les grains de vitellus). A droite, formule développée de la* colchicine.**



P. Sentein

Structure de la colchicine (selon Loudon)

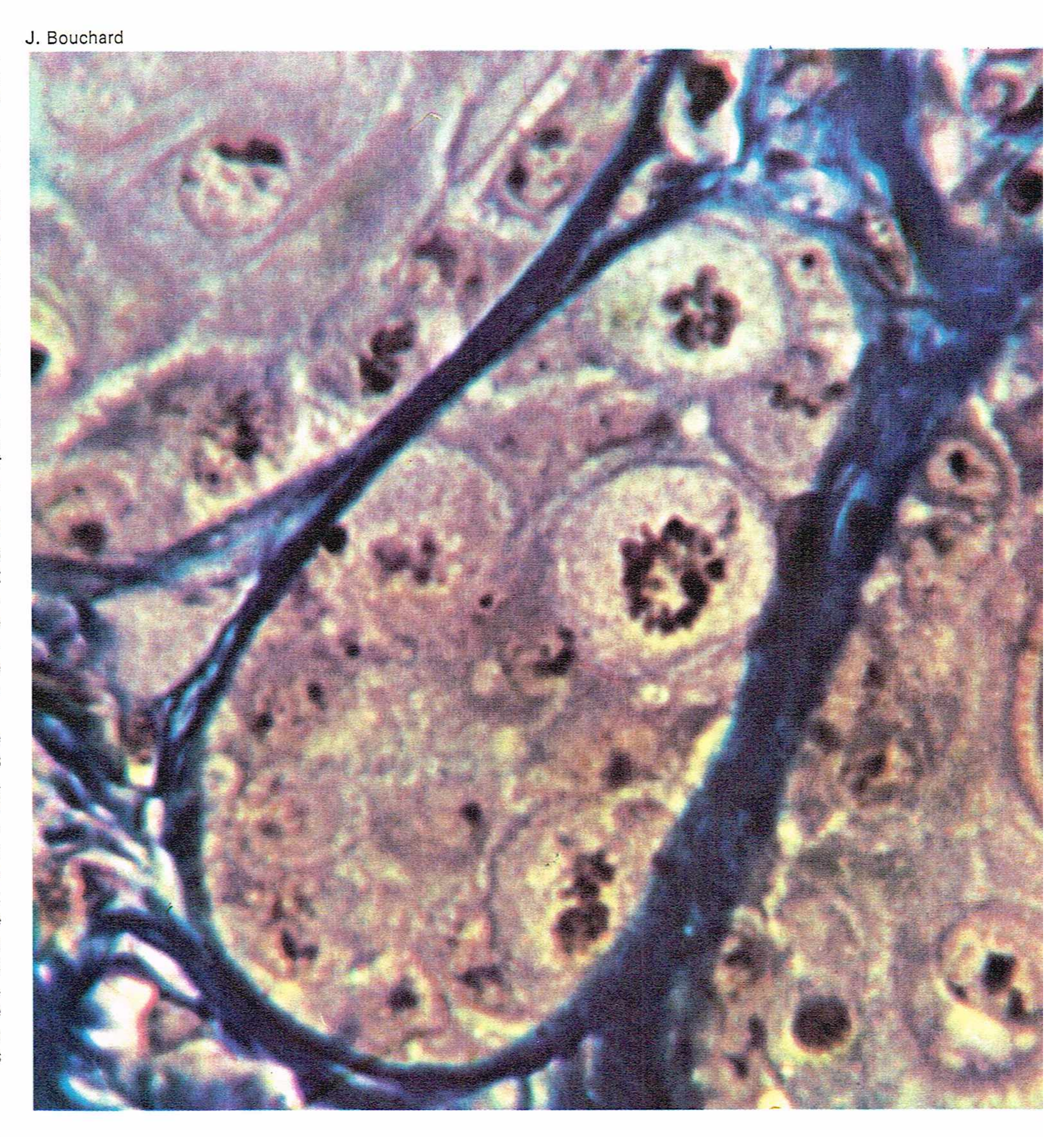
Richard Colin

mement spectaculaire (Delcourt, 1938). Pour Dustin Jr. (1955), la colchicine ralentit l'anachromase; cela est évident dans le cas des cellules épidermiques de la souris (Bouchard et May, 1963 et 1966).

Dès à présent, il faut signaler que les résultats sont nettement différents suivant le matériel biologique utilisé. L'effet de la colchicine peut être, selon le matériel, la température et la concentration, plus ou moins marqué au niveau de la métaphase. En 1951, Gaulden et Carlson, en faisant agir cet agent sur des cellules nerveuses de sauterelle, mirent en évidence trois types d'anomalies structurales : les fortes concentrations (50 à 25×10^{-6} M) provoquent un retour des prophases à l'état quiescent; aux alentours de $2{,}5 \times 10^{-6}$ M, les chromosomes sont excessivement contractés puis se groupent sans ordre et peuvent former des amas, vaguement subsphériques *(métaphases en boules)*; ou bien encore, ils se dispersent dans la cellule *(métaphases explosées)*. De toute manière, *ni le fuseau ni les asters n'apparaissent dans ces cellules*; vers $1{,}9 \times 10^{-6}$ M, la colchicine permet la formation d'une plaque métaphasique *(métaphases en étoiles)*, et, cette fois, une partie de l'appareil achromatique peut se former : les fibres chromosomiques sont bien apparentes. Ces types d'anomalies se retrouvent dans presque tous les tissus des êtres vivants. Un blocage optimal est obtenu, chez les Mammifères, par une dose de 1 mg/kg (Brues, 1951), et les effets sont observables 8 à 10 heures après injection du produit. (Ce temps peut varier suivant les tissus : 7 heures sont nettement suffisantes pour l'épiderme de la souris.)

Comme on peut le constater par incorporation de colchicine tritiée, la colchicine détruit les microtubules en se fixant sur le stock protéique précurseur (Taylor, 1965). C'est la destruction du fuseau achromatique qui entraîne les aberrations décrites précédemment. Certaines cellules peuvent cependant « passer au travers » : leur division est normale, ce qui prouve que la susceptibilité des cellules d'un même tissu peut être différente; en fait, *il n'y a jamais un blocage complet,* quelle que soit la dose. De plus, une dose trop forte entraîne la pycnose des cellules et la dégénérescence des tissus; la substance antimitotique devient alors cytotoxique, puis toxique pour l'individu (comme n'importe quelle autre drogue utilisée à dose excessive). L'action d'un antimitotique doit être étudiée avec les concentrations optimales, qui ont été bien établies avec attention (Brues 1937-1951; Lits, 1936; Sentein, 1940-1961).

J. Bouchard



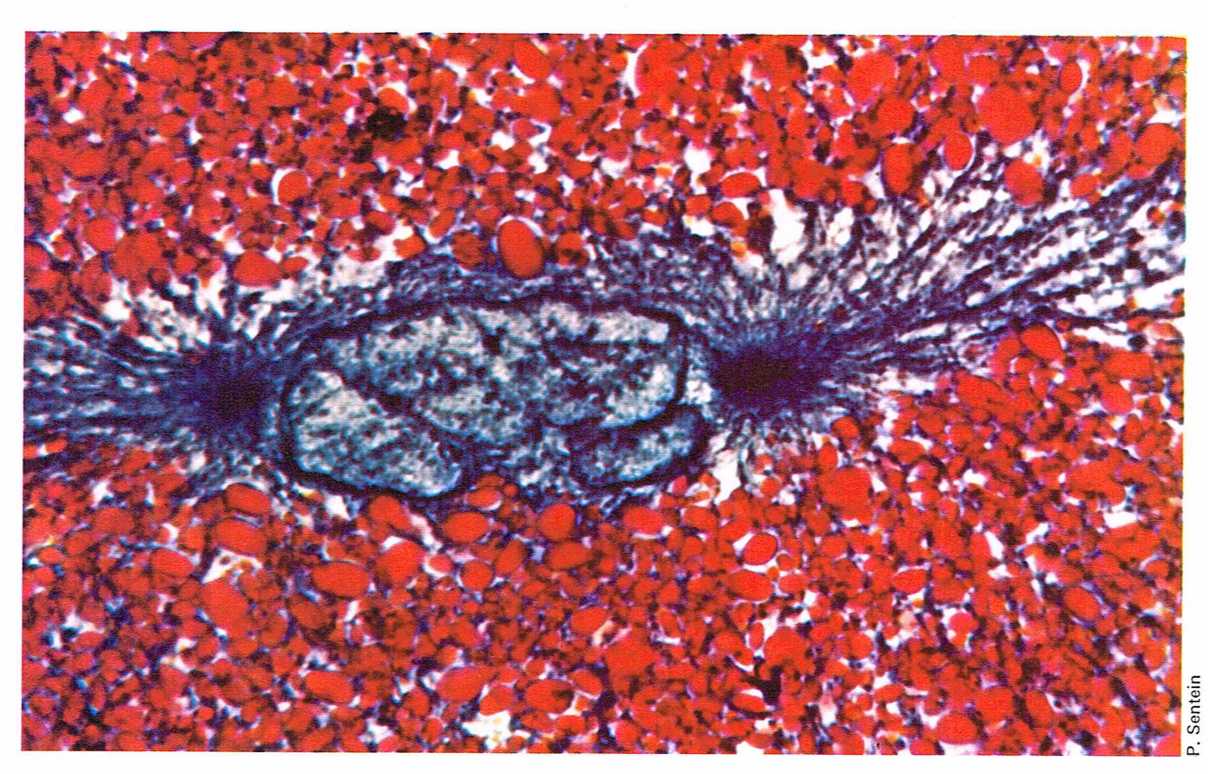
▲ ***Cellules épithéliales de follicules pileux en régénération; coupe de peau de souris, coloration topographique, colchicine 1 mg/kg. On observe dans les tissus en croissance une accumulation de mitoses dites en étoiles lorsque la concentration de l'antimitotique est faible ou lorsque les cellules sont résistantes.***



J. Bouchard

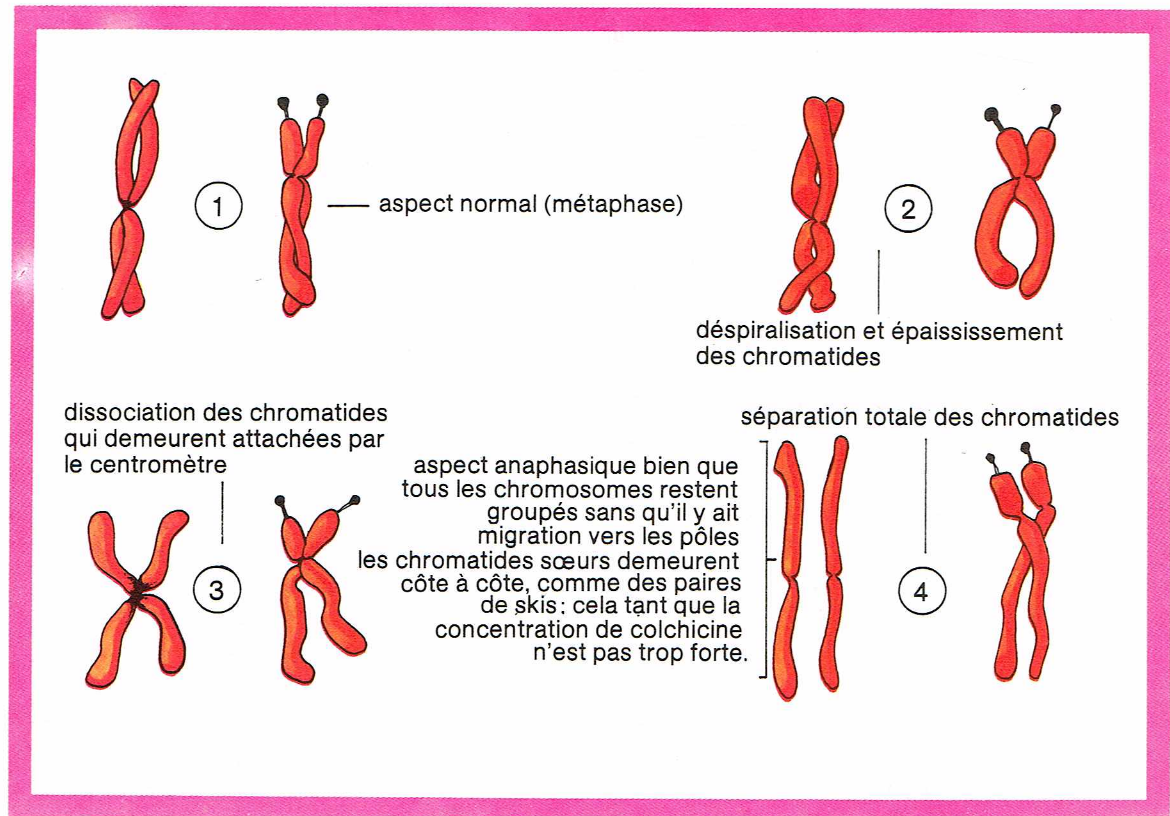
◀ ***Dans les cellules épithéliales de follicules pileux normaux, la colchicine provoque l'accumulation de*** **métaphases en boules** ***(colchicine 1 mg/kg; coupe de peau de souris; coloration topographique).***

▶ *Œuf de pleurodèle en deuxième division de segmentation ; au début de la prophase, on observe des déformations considérables du noyau ; les fibres fusoriales continues commencent à se former ; la coloration (safranine-bleu de méthyle) met en évidence les grains de vitellus (rouges) et les fibres « achromatiques » (bleues) ; la chromatine est encore assez diffuse (bleu violacé).*

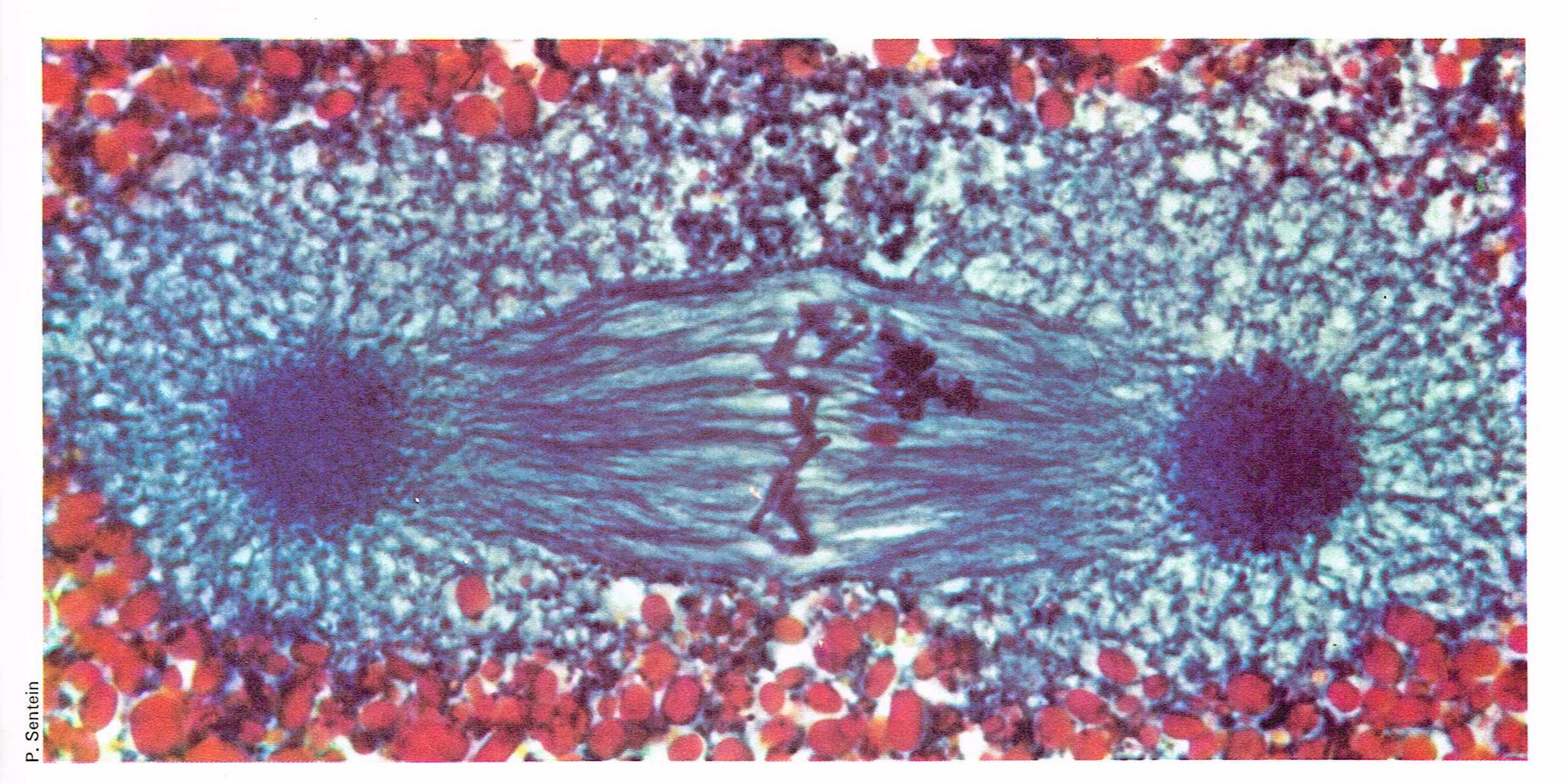


P. Sentein

Après action de la colchicine, les chromosomes peuvent être observés sans préparation ou après écrasement de la cellule. On constate qu'ils sont typiquement métaphasiques, voire anaphasiques, puisque les chromatides sont totalement séparées : on parle de *bimétaphases*. Ce caractère est particulièrement net chez les végétaux. Les effets de la colchicine sont lentement *réversibles ;* aussi est-il possible, dans certains cas, d'obtenir une reconstitution du noyau sans plasmodiérèse (on a donc une cellule tétraploïde) ; *la polyploïdie* peut être ainsi obtenue expérimentalement, au moins chez les plantes. Chez les animaux, on peut « fabriquer » des œufs polyploïdes, mais il y a ensuite une régulation du nombre des chromosomes de l'embryon. La dégradation du matériel achromatique déjà structuré ne se produit pas de façon quelconque. La colchicine agit d'abord sur les fibres astériennes, puis sur les fibres continues du fuseau ; enfin, les fibres chromosomiques sont détruites. Cette destruction se fait par fragmentation des microtubules ; le microscope électronique permet de voir que les fragments gonflent puis se fondent dans le hyaloplasme, où leur accumulation peut conduire à la formation d'un *globule hyalin,* parfaitement visible dans les neuroblastes de sauterelle (Gaulden et Carlson) ou les cellules d'*Allium*. Des modifications de même nature peuvent apparaître durant le développement de l'oursin *Arbacia*.



▶ *Évolution de deux chromosomes végétaux d'une cellule traitée par la* colchicine (Allium) [*d'après Levan*].


P. Sentein

▲ *Œuf de triton en* **métaphase de 2e division de segmentation** *(coloration safranine-bleu de méthyle) :*
les fibres astériennes sont peu développées;
les fibres fusoriales sont au maximum de leur développement;
les chromosomes (violacés) sont disposés en plaque équatoriale.

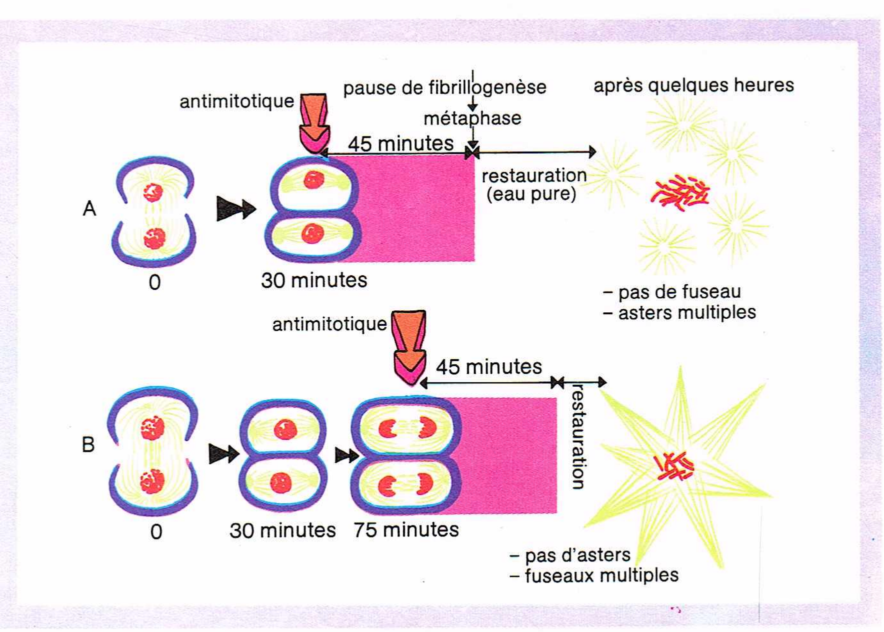
En utilisant l'**acénaphtène,** substance mille fois moins active que la colchicine, Levan est parvenu, en 1954, à une analyse très précise de ces phénomènes. Il semble que le mécanisme soit le même avec différents types d'agents « antifusoriaux ». Les résultats obtenus avec les *mitoses de segmentation de l'œuf* (5 à 6 clivages) sont extrêmement intéressants; ils permettent une « dissection » des phénomènes de la division. Toutefois, il faut remarquer, avec Chèvremont, que les cellules qui se forment à partir de l'œuf sont fondamentalement différentes des cellules d'un organisme adulte. Les différences portent sur divers points : le rapport nucléocytoplasmique, le contenu en ADN, les activités de synthèse, très inégalement réparties, les enzymes latentes; de plus, l'embryon des animaux expérimentaux ne prélève aucune nourriture dans le milieu. Enfin, la colchicine est beaucoup moins efficace sur le fuseau durant la segmentation. Quoi qu'il en soit, l'étude de l'œuf d'Urodèle est des plus instructives. Sentein, dont les observations sont absolument fondamentales, utilise ce matériel depuis 1947.

Il faut décrire rapidement la mitose de segmentation. Tout d'abord, soulignons le fait que les asters sont visibles durant toute la segmentation. Entre la fin de la première télophase et la fin de la prophase suivante, le noyau subit l'influence des pôles; il se déforme, tourne de 90°, ce qui est en liaison avec la disposition du futur plan de clivage, puis prend une forme de galette, entre les pôles astériens; en même temps, *les fibres fusoriales naissent et se développent considérablement, tandis que les fibres astériennes tendent à se raccourcir.* Il y a, durant la segmentation, une *alternance de croissance et de régression des asters et du fuseau.* Ce mécanisme n'est plus apparent quand l'embryon s'organise ni, à plus forte raison, chez la larve et l'adulte. C'est donc là un aspect de la mitose assez caricatural mais extrêmement utile pour l'expérimentateur. L'appareil achromatique « n'a pas seulement une fonction nucléaire, mais aussi une fonction d'organisation architecturale du cytoplasme et de la membrane » (Sentein, 1961).

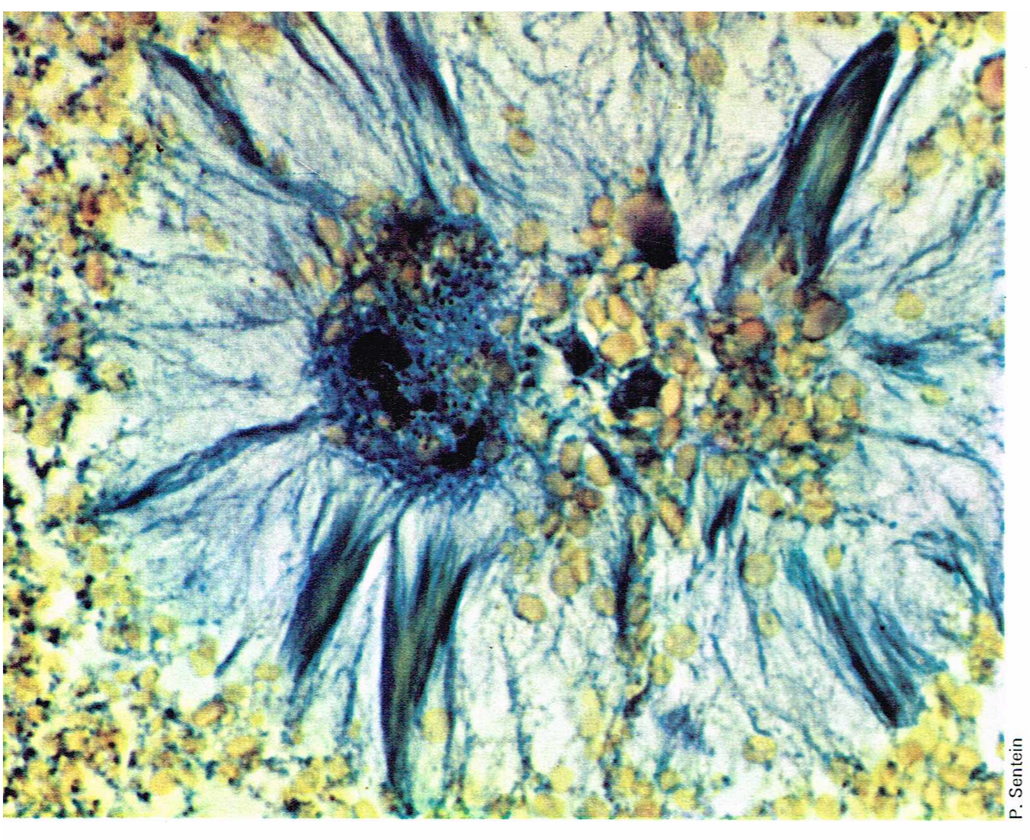
Suivant le moment où il a fait agir l'antimitotique, Sentein a obtenu deux types de résultats avec l'œuf de *Triturus helveticus* traité par le **phényluréthane.**

Dans le premier cas, la *fibrillogenèse interne* (fusoriale) est inhibée : dans le second, il n'y a pas de *fibrillogenèse externe* (astérienne). Le fait que dans les deux cas le nombre des centrioles soit nettement augmenté montre que l'inhibition exercée par l'antimitotique sur les microtubules astériens ou fusoriaux provoque une libération plus ou moins intense des centrioles, lesquels tendent à se *multiplier anarchiquement.* Dans la cellule normale, la formation de microtubules inhibe cette tendance des pôles à la multiplication anarchique (1962). En somme, *la tendance naturelle du hyaloplasme est de fibriller :* si l'on empêche la formation des microtubules de l'appareil achromatique, ce sont les *microtubules des centrioles* qui se multiplient ou qui peuvent même se former n'importe où, peut-être *de novo,* à partir du *stock de protéines microtubulaires* (SPM) non polymérisées.

▼ *Représentation schématique de* **deux effets d'un antimitotique** *obtenus par traitement de l'œuf de triton :*
dans l'expérience A, les cellules sont traitées alors que le fuseau se forme;
dans l'expérience B, les cellules sont traitées
alors que les asters se développent (d'après un travail de Sentein sur le **phényluréthane,** *moins brutal que la colchicine).*



Richard Colin



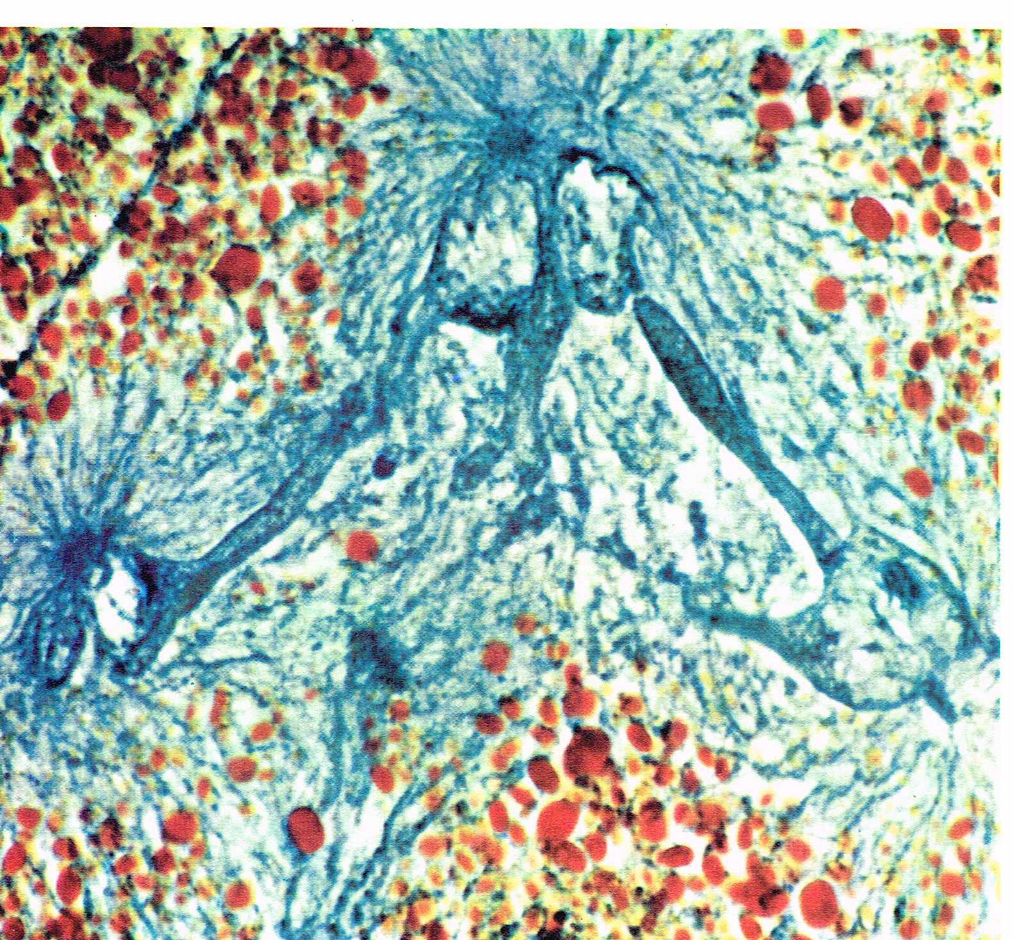
P. Sentein

En faisant agir l'*acide butyrique,* qui tend à perturber la polarité sans empêcher la formation de MT (microtubules), on obtient des cellules dont l'aspect diffère suivant le moment où l'antimitotique a été appliqué, mais qui, dans tous les cas, sont abondamment pourvues de pôles anarchiques et de longs microtubules (Sentein, 1968).

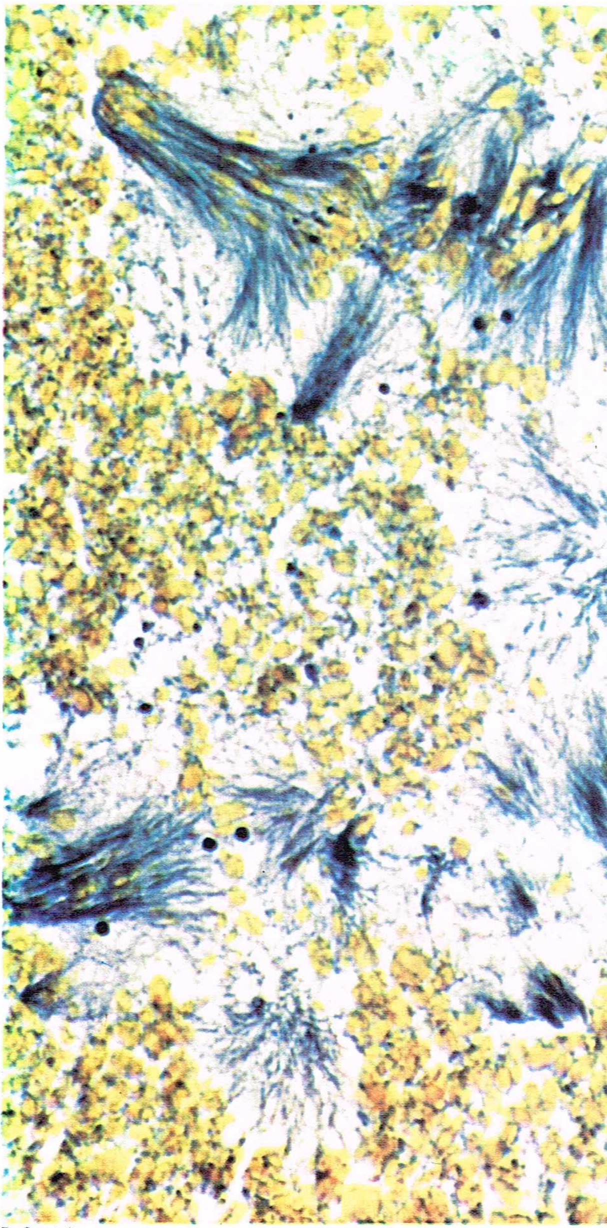
Sentein est parvenu à montrer comment ces antimitotiques perturbent le *clivage*. En effet, les « antifusoriaux » tels que la colchicine, l'acénaphtène, le phényluréthane ou l'acide butyrique empêchent aussi la formation du sillon de clivage. Il a observé que, durant la segmentation normale, il se forme, entre les deux lots de chromosomes anaphasiques, plus précisément à l'équateur du fuseau, une *zone claire,* ou *diastème,* qui, après la régression des fibres fusoriales, acquiert une structure fibrillaire secondaire. Cette fois, les MT sont transversaux. Ce diastème s'accroît vers la phériphérie, vers le cortex de la cellule, et les microtubules semblent destinés à drainer des plaquettes vitellines près de ce cortex. Autrement dit, durant la mitose, il y a un « balancement » non seulement entre la fibrillation astérienne et fusoriale, mais aussi entre la fibrillation de l'appareil achromatique et du diastème. Or, si l'on fait agir l'acide butyrique, la mitose est plus ou moins inhibée, mais, par contre, le diastème se forme, s'accroît, acquiert des microtubules et prend souvent des proportions extravagantes ; la disposition de celui-ci étant anormale, le clivage ne se fait pas ; la

▲ **Mitose complètement dissociée** ***obtenue après action de l'*****acide butyrique** ***sur l'œuf de triton : la chromatine est placée sans ordre (coloration Feulgen, bleu de méthyle).***

▼▶ ***A gauche, si l'on replace les œufs dans l'eau pure*** **après traitement antimitotique,** ***la mitose peut se poursuivre ; ici, l'œuf, d'abord traité par l'acide crotonique, donne une image télophasique à trois ou quatre pôles ; le matériel achromatique est donc fonctionnel, mais très anormal si l'on en juge par la forme tout à fait aberrante des noyaux reconstitués (coloration safranine, bleu de méthyle, orange G). A droite,*** **mitose multipolaire** ***obtenue après action de l'*****acide butyrique** ***sur l'œuf de triton : le matériel « achromatique » est très abondant mais désordonné (coloration Feulgen, bleu de méthyle ; les chromosomes ne sont pas repérables sur cette coupe).***



P. Sentein



P. Sentein


P. Sentein

30 000
20 000
10 000
40
30
20
10
colchicine
réticulocytes (globules rouges immatures)
leucocytes
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 jours
Richard Colin

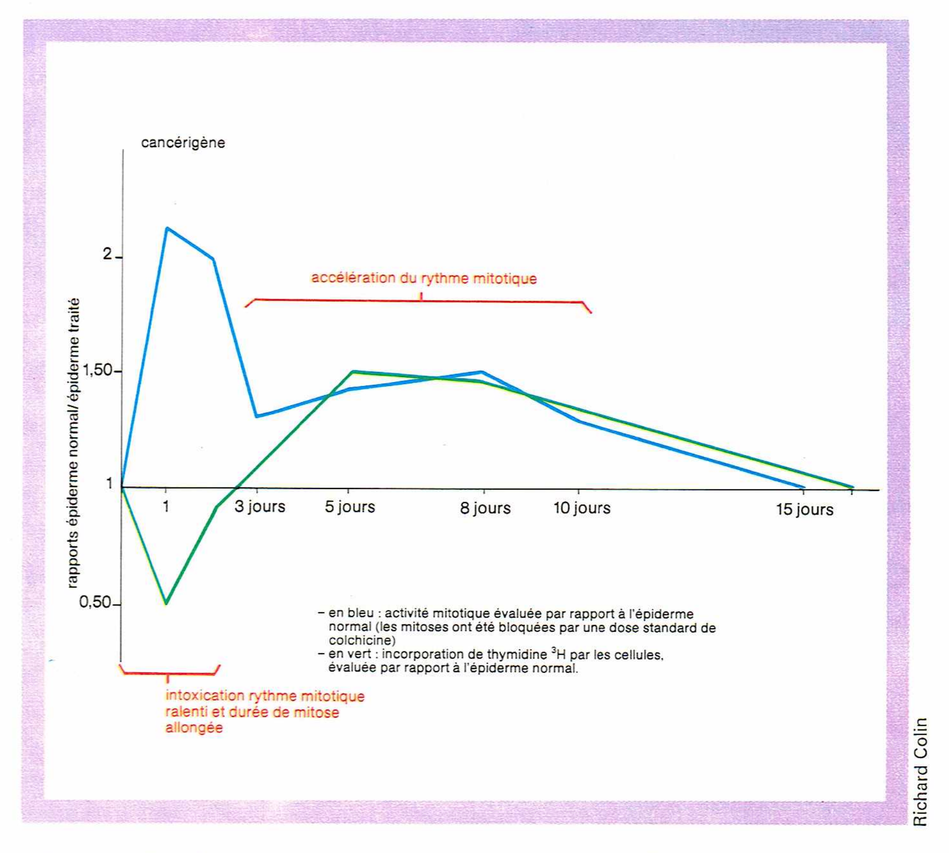
◀▲ *A gauche, vue polaire d'une* **métaphase en étoile** *bloquée par un antimitotique détruisant l'*ensemble *des microtubules (hydrate de chloral; coloration de Flemming); les chromosomes, manifestement clivés, ne sont pas liés à des fibres nettes.*
A droite; action de la **colchicine** *sur le nombre des cellules contenues dans le* **sang** circulant du lapin. *La chute du taux de réticulocytes (nombre estimé pour 1 000 globules rouges) est très importante; c'est l'indice d'une anémie brutale mais transitoire : les cellules souches sont momentanément incapables de se diviser. La chute est moins nette pour les leucocytes (globules blancs); de plus, elle est suivie d'une brutale augmentation (leucocytose) qui correspond à un « balayage de la moelle » par la colchicine. On notera que les troubles sont intenses mais pas toujours faciles à interpréter.*

cellule demeure totalement indivise ou bien des sillons s'ébauchent, sans pouvoir évoluer; la cellule bourgeonne et prend un aspect perlé. Fait particulièrement curieux, si la fibrillation est, somme toute, moins intense que dans un diastème normal, on trouve, dans la zone claire aberrante, des micro-asters et des hémifuseaux disposés sans aucun ordre. On voit que la mitose normale est le résultat d'équilibres fort complexes et beaucoup plus variés que ce que l'on pouvait imaginer en étudiant seulement l'organisme adulte. En 1968, Sentein concluait à l'existence de mécanismes du type *feed-back :* dans la cellule normale, des circuits de rétroaction maintiendraient, d'une part, la cohérence des deux pôles principaux de la mitose, lesquels sont responsables de la polarisation de la fibrillogenèse, et, d'autre part, la cohérence de l'appareil achromatique et du diastème; ainsi, certains antimitotiques, tel l'acide butyrique, inhibent d'abord le clivage et libèrent l'ensemble achromatique en lui permettant d'entraîner la division nucléaire, laquelle peut se produire plusieurs fois avant que la drogue dépolarise et inactive le fuseau; dans l'œuf normal, la formation des sillons de clivage ralentit et régularise les mitoses de segmentation.

Quelles sont les conséquences de l'arrêt du clivage et des troubles de l'appareil mitotique?

— Un blocage véritablement total du clivage donne naissance à des *œufs plasmodiaux* quand les cellules sont soustraites à l'action de l'antimitotique. Le nombre et la taille des noyaux sont variables. Les centrioles sont d'autant plus nombreux que l'inhibition de l'appareil achromatique a été plus longue. Quant aux noyaux, ils peuvent être *polyploïdes* (en effet, pour des concentrations optimales, *les chromosomes ont pu se cliver plusieurs fois durant le traitement antimitotique*). En somme, en jouant sur la nature de la drogue, sa concentration et la durée du traitement, il est possible d'obtenir une dissociation plus ou moins complète des rapports qui existent normalement entre la fibrillogenèse du sillon, celle des pôles et la duplication des chromosomes.

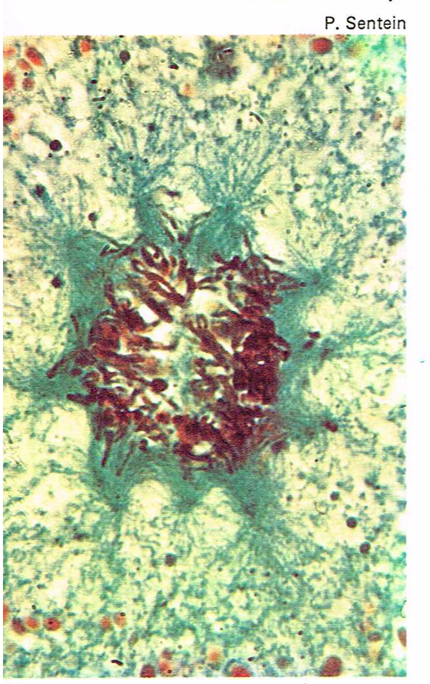
— Les antimitotiques peuvent produire des troubles importants chez l'individu; l'utilisation de ces drogues est donc toujours délicate. La colchicine provoque des troubles nerveux, avec vomissements, diarrhées et, fréquemment, des hémorragies. Ces effets se comprennent facilement : la substance agit nettement sur les MT des cellules nerveuses (sans les détruire) et bloque l'activité du revêtement intestinal, dont la croissance est normalement continue. Il y a, de plus, un ralentissement considérable de la multiplication de cellules sanguines. Si la colchicine est un antimitotique dangereux, on considère que certains des antimitotiques modernes le sont moins. En fait, la colchicine n'est utilisable que pour le traitement de lésions superficielles, épidermiques (Sentein, 1940). *En revanche, la colchicine s'est avérée extrêmement utile pour l'étude de divers problèmes biologiques.* Si les tentatives pour déterminer, grâce à elle, la durée de la mitose ne sont guère concluantes, elle rend de grands services pour localiser, dans les tissus, les zones d'activité mitosique, ou *foyers prolifératifs*. En effet, l'accumulation des mitoses colchicinées permet de repérer des foyers de prolifération qui, observés sans traitement, pourraient passer inaperçus; les observations sont souvent vérifiées par l'emploi de thymidine tritiée, qui permet de s'assurer que l'accumulation des mitoses est bien la conséquence d'une accélération du rythme mitotique (activation des synthèses d'ADN) et non pas la conséquence d'un allongement démesuré de la durée de la mitose (Iversen, 1962). Dans le domaine endocrinologique, les résultats sont intéressants, mais compliqués du fait que la colchicine paraît agir en synergie avec diverses hormones (Allen et coll., 1937; Dornfeld, 1951;

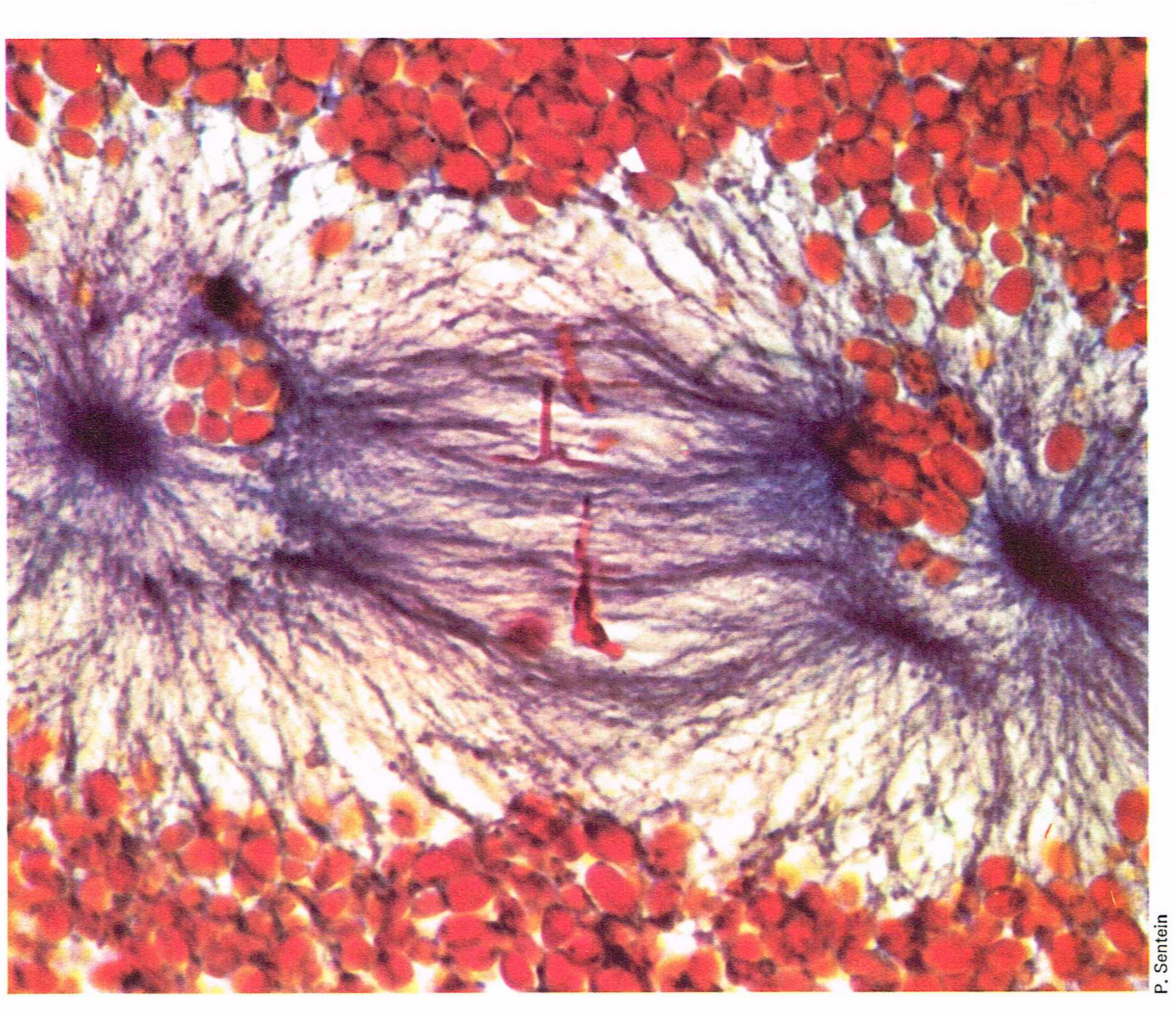


▲ *Détermination de l'*activité mitotique réelle *d'un tissu (épiderme de souris) après un traitement excitateur par un mélange cancérigène (d'après Iversen et Evensen). On observera que peu de temps après le traitement cancérigène (les 2 premiers jours), les cellules sont « choquées », puis elles réagissent ensuite en se multipliant intensément (du 3e au 8e jour), ce qui correspond à une forte incorporation du traceur.*

▼ *Le phényluréthane provoque la formation de mitoses pluripolaires qui peuvent évoluer quand l'œuf est remis dans l'eau; selon la concentration de l'antimitotique, cette multiplication des pôles peut être intense, mais les fibres astériennes sont réduites (P. Sentein a compté 20 pôles dans cet œuf qui demeure totalement indivis).*

P. Sentein





P. Sentein

▶ *De haut en bas, l'action du* **dioxyde de sélénium** *(M/100) produit seulement* **une destruction localisée des microtubules.** *On voit ici que du hyaloplasme, chargé de grains de vitellus (rouges), prend la place des MT détruits; noter que les chromosomes sont lésés (coloration safranine, bleu de méthyle, orange G). Au milieu, action de la* **vincaleucoblastine** *sur l'œuf d'Amphibien (au stade morula). Aucune trace de fibres astériennes ou fusoriales n'est visible; les chromosomes sont totalement épars et en nombre excessif (coloration de Flemming). En bas,* **anomalie de migration chromosomique** *produite par un hydrocarbure cancérigène,* **le 3, 4 benzopyrène** *(goudrons de houille et fumée du tabac, par exemple). Dans certaines conditions, ce type d'anaphase n'est pas exceptionnel dans l'épiderme ou les follicules pileux traités par cette substance (coloration topographique).*



P. Sentein



J. Bouchard

Eigsti et Dustin, 1955). Cette substance a permis, *in vitro*, une analyse précise des conditions de croissance cellulaire, en particulier après stimulation hormonale (nombreux travaux de Bullough et Laurence; Gelfant, 1963, etc.). En outre, la *régénération* tissulaire et la *formation des tumeurs* peuvent être mieux étudiées en employant la colchicine durant l'expérimentation (Ancona, 1942; Dustin Sr., 1936-1943; Lüscher, 1946; Herlant, 1948; Dustin Jr. et coll., 1961, etc.). Cependant, au sujet de la tumorigenèse expérimentale, Dustin Jr. a noté que cet antimitotique n'avait pas été employé comme on aurait pu l'espérer : certaines études ont été faites sur la peau traitée par des cancérigènes (Dustin, 1938; Bernelli et Zazzera, 1952; Paletta et Cowdry, 1942; Bouchard et May, 1966; Bouchard, 1971), mais cela n'a, semble-t-il, pas été le cas pour la cancérisation expérimentale du foie par les colorants azoïques, ainsi que pour bien d'autres tumeurs.

Outre la colchicine et les substances dépolarisantes déjà citées, on utilise très souvent maintenant les alcaloïdes de la pervenche : la **vincristine** et surtout la **vincaleucoblastine.** Les travaux effectués avec ces substances sont extrêmement nombreux. Leurs effets sur la mitose sont, *grosso modo*, les mêmes que ceux de la colchicine. Notons pourtant que ce type d'alcaloïde peut provoquer des anomalies nucléaires importantes; d'après Bassleer, Parmentier et Desaive (1973), la vincaleucoblastine entraîne, dans certaines conditions, une forte augmentation de la teneur des cellules en ADN et en protéines, ce qui risque de fausser nombre de résultats déjà obtenus.

Brigg, Cornman, Brachet, Lehmann, Gavaudan, Sentein et beaucoup d'autres ont recherché des antimitotiques dépolarisants et mesuré leurs effets sur des matériels très divers. La liste de ces produits serait fort longue. Pour en avoir une idée, on peut se reporter à la revue d'Eigsti et Dustin et aux travaux de Sentein. Signalons, enfin, que divers cancérigènes se sont révélés antimitotiques.

Régulation et déterminisme de la mitose

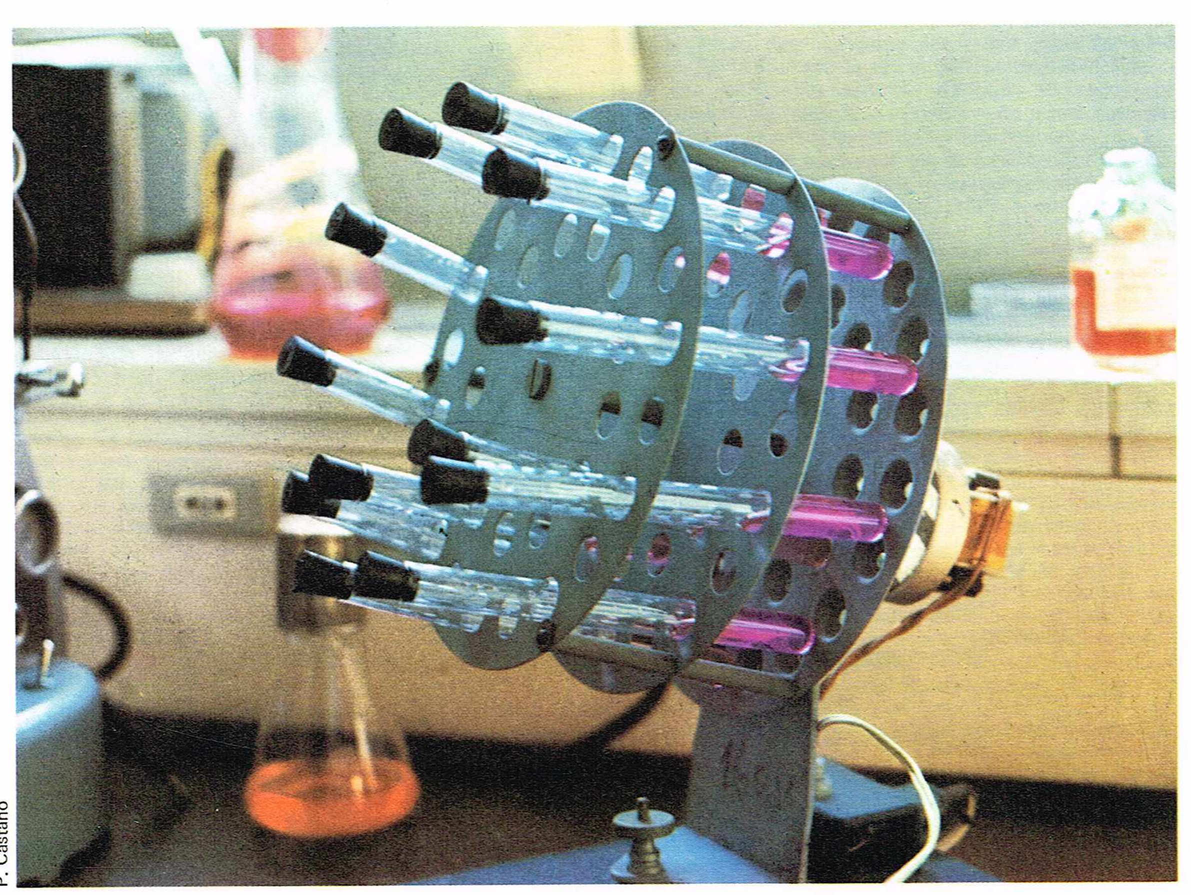
Avant d'évoquer une régulation et un déterminisme éventuels de la mitose, il faut préciser comment on interprète sa mécanique.

● *La mécanique de la mitose : comment les chromosomes peuvent-ils migrer? Comment peut donc s'effectuer le clivage?*

— On a commencé, au siècle dernier, par parler d'une « force vitale mitotique » *(sic)*. Passant de la métaphysique à la physique, on a ensuite envisagé une *théorie électromagnétique* (Hartog, Gallardo, Lillie, etc.). De fait, en regardant un film sur la division mitotique de cellules cultivées *in vitro,* on a l'impression que les chromosomes se déplacent comme s'ils étaient attirés par des pôles aimantés. On peut ainsi tenter de réaliser un modèle mitotique en utilisant deux aimants et de la limaille de fer, mais on aura bien du mal à produire des mouvements de limaille pouvant, même de loin, s'apparenter à la mitose réelle! Cependant, on ne doit pas *a priori* éliminer l'éventualité de forces électromagnétiques dont l'action se ferait sentir dans la cellule. N'oublions pas que, vers 1965-1966, on a envisagé que des champs magnétiques puissent perturber la multiplication de cellules cancéreuses, hypothèse qui a entraîné des controverses (Lacassagne; Mathé). Aussi, comme le point ne paraît pas avoir été fait sur la question, il convient d'être prudent au sujet d'une théorie électromagnétique de la mitose. Divers faits prouvent que d'autres forces interviennent en priorité dans ce phénomène.

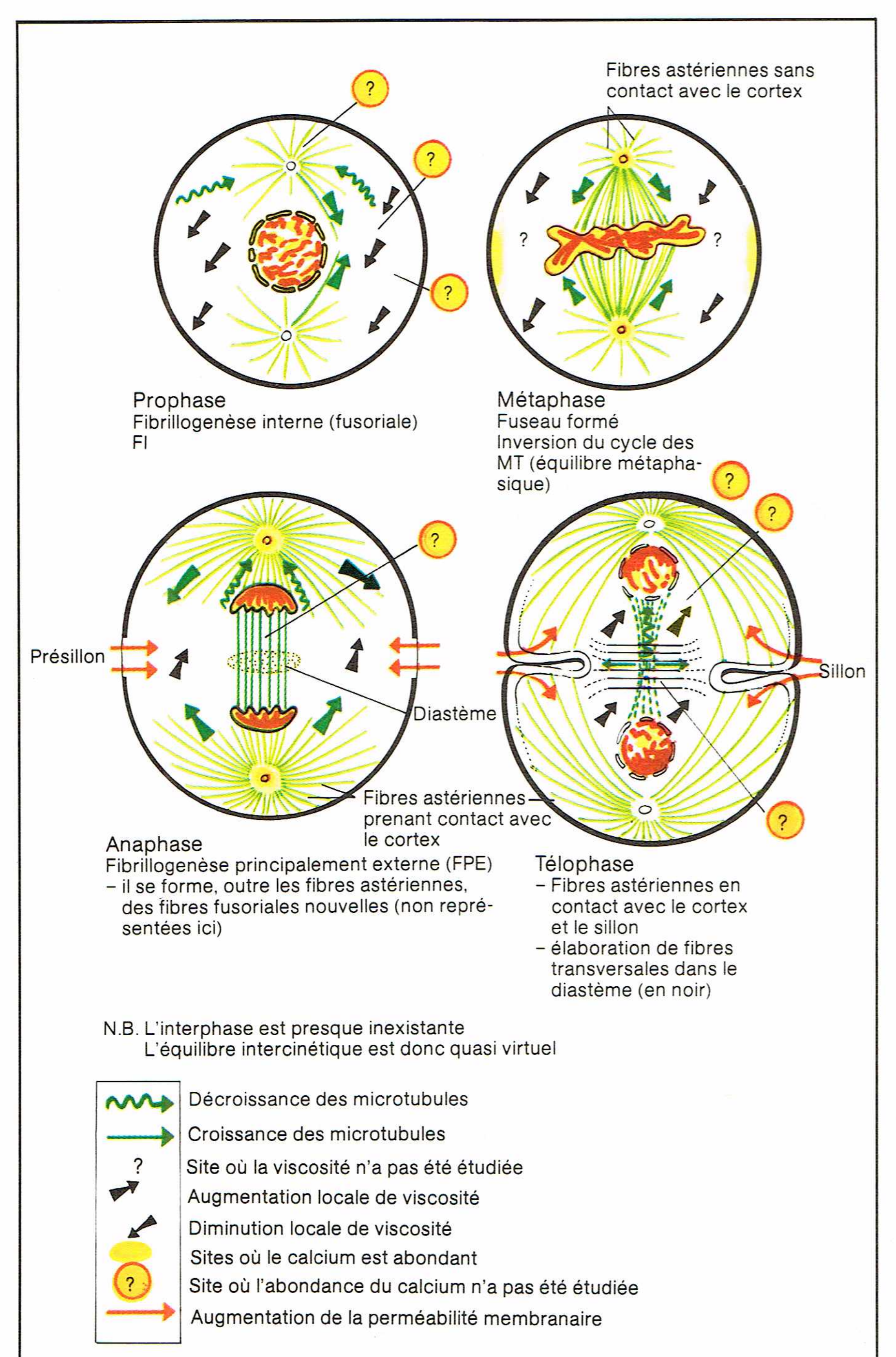
Avec Van Beneden, on a longtemps pensé que la migration des chromosomes était due à des *propriétés contractiles* des fibres de l'appareil achromatique. En fait, les microtubules qui constituent cet appareil paraissent être des structures dépourvues, par elles-mêmes, d'un « pouvoir de traction ». Mais quel est le rôle des ponts, des « bras », observables tout au long de microtubules métaphasiques (Burkholder et coll., 1972)? Ils seraient contractiles (Mac Intosh, 1969), mais la nature de ces bras serait toutefois différente de ce que l'on observe au niveau des microtubules des cils, des flagelles ou de l'axostyle de Protozoaires. Avec Mac Kinnon et ses collaborateurs (1973), divers auteurs pensent que, dans le cas de l'appareil achromatique, ces bras représenteraient des portions de microtubules à *des stades différents d'organisation.* Dustin, qui paraît douter également de leur pouvoir contractile, met l'accent sur le fait que les microtubules mitotiques paraissent être assez nettement différents de ce que l'on trouve dans des complexes plus structurés : les centrioles, les corpuscules basaux, l'axostyle et les microtubules des cellules nerveuses (1974). Deux points essentiels doivent être précisés pour que l'on comprenne mieux comment fonctionnent les divers systèmes microtubulaires; il faut, d'une part, étudier le *turnover* des protéines de base, puis leur vitesse d'assemblage et, d'autre part, tenter de mieux connaître les protéines et les mucopolysaccharides qui sont, dans certains cas, étroitement *associés* à ces MT.

— La théorie selon laquelle *tous les mouvements mitotiques dépendraient d'une variation locale et réversible de la structure colloïdale* du protoplasme ne manque pas d'intérêt. Nous avons vu que Chèvremont insiste beaucoup sur l'importance des variations de viscosité observées dans la cellule en division; de même, Sentein parle d'une « onde de gélation » qui affecterait successivement les différents points chauds de la cellule. Il semble bien qu'il y ait, durant la prophase des cellules de l'adulte, une compression du noyau par les fibres astériennes et, vraisemblablement, par les fibres fusoriales continues en formation; ensuite, dès la prométaphase, les chromosomes sont repoussés et se trouvent progressivement disposés suivant l'équateur du fuseau. Pour expliquer le mouvement des deux lots de chromosomes anaphasiques, on pourrait envisager aussi l'hypothèse suivante : la portion interzonale du fuseau se gélifierait de proche en proche, repoussant ainsi les chromosomes vers les pôles; en 1974, Margulis a précisé cette hypothèse. Par ailleurs, il apparaît clairement que la formation du sillon de clivage est la conséquence d'une gélification du cytoplasme sub-cortical, mais il semble que le mécanisme précis de l'invagination ne soit pas totalement interprété. La notion de « gélification » n'est d'ailleurs pas claire, puisque ce terme est employé à la fois pour la fibrillogenèse et pour l'augmentation de viscosité du cortex de l'œuf où ne se forment pas de microtubules. On trouve cependant des *microfilaments* de type actine dans le fond des sillons de clivage (Perry et coll., 1971).



P. Castano

◀ ***La culture de tissus nécessite la confection de milieux nutritifs complexes; ils peuvent être entièrement synthétiques ou enrichis par 5 à 10 % de sérum (veau ou cheval par exemple). On voit ici un tambour rotatif pour culture en « tubes roulants »; le milieu est liquide; l'ensemble du système doit être maintenu dans une enceinte thermostatée.***



▲ ***Mécanique de la mitose et viscosité cytoplasmique** (œuf). Le calcium augmente la viscosité du cytoplasme (ex. : Baker et coll., 1972) ; il agit localement durant les différentes étapes de la mitose, mais on ne sait pas très bien d'où il vient : pour Tilney et Marsland (1969), il sort du noyau quand la membrane disparaît (fin de prophase) ; pour Gingell (1970), il vient de l'extérieur ; pour Timourian et coll. (1972), il est libéré par les asters.*

Comme le diamètre des MT est relativement grand (250 Å), on peut penser que leur lumière joue un rôle particulier ; il ne semble pas qu'à l'heure actuelle on ait envisagé l'existence d'un *flux* d'eau (voire d'éléments minéraux) à l'intérieur des MT. Pourtant il faut rappeler que la viscosité d'une solution colloïdale dépend du pH et de la concentration des divers ions qui s'y trouvent, et que, dans la cellule en division, il existe des points de viscosité fort différente. Or, en chimie des colloïdes, les *phénomènes électrocapillaires* sont d'une grande importance ; ainsi, quand il existe une ddp entre les extrémités d'un tube capillaire, on constate que du liquide se déplace dans le tube *(électro-osmose)*. Enfin, rappelons que les ions Mg^{++} sont indispensables pour la formation des MT, que les ions Ca^{++} jouent un rôle régulateur fondamental (Shelanski, 1973), et que ces mêmes ions *Ca^{++} et Mg^{++} se fixent en abondance sur les chromosomes* durant la mitose, les neutralisent progressivement, *au point que toutes les cendres observées après micro-incinération paraissent être accumulées à leur surface* (Scott, 1930 ; Funaoka et coll., 1930 ; Barigozzi, 1937 ; Williamson et coll., 1944 ; Favard, 1973). D'autres ions pourraient être impliqués : selon Kabat (1967), *divers ions auraient une action sur les histones et la mitose ;* pour Rubin (1972), ou Williams et Lœb (1973), *le zinc serait essentiel*.

De toute évidence, le problème de la *viscosité* doit être lié à celui de la *répartition de l'eau et des cations durant la mitose*. Il conviendrait donc de localiser plus précisément ces ions et de mesurer d'éventuelles différences de potentiel intracellulaires. On pourrait alors vérifier si les phénomènes alternatifs, que Sentein a parfaitement mis en évidence dans l'œuf d'Urodèle, sont en relation avec un *système de pompage et de répartition* de l'eau et des cations de la cellule.

Enfin, Inoué et Sato (1967) estiment que la migration des chromosomes anaphasiques vers les pôles est due à une *dépolymérisation* progressive des fibres chromosomiques ; sans être contractiles, les microtubules entraîneraient les chromosomes durant cette phase de raccourcissement. Sentein a constaté que cette dépolymérisation a lieu après une déformation, un « pelotonnement » des MT qui font alors penser à des « cheveux dont on brûle le bout ». Dans deux mises au point récentes (1972-1974), Dustin estime que cette dépolymérisation est le seul phénomène qui paraisse entraîner la migration anaphasique. Ceci est peut-être excessif.

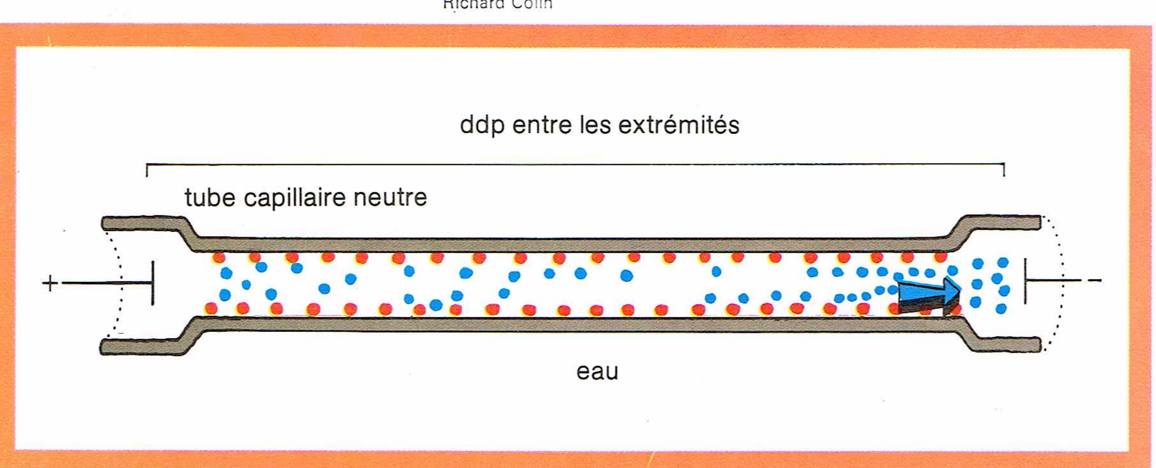
On le voit, ces théories ne permettent pas encore d'avoir une idée précise de la mécanique du clivage.

● *Régulation de la mitose.*

On sait depuis longtemps que de nombreuses substances modifient le rythme des divisions mitotiques d'une population cellulaire. Il y a des facteurs ***accélérateurs*** et des facteurs *freinateurs*.

Les facteurs accélérateurs

On pourrait envisager que, dans un tissu, la prolifération soit *entretenue* et *stimulée* par des facteurs produits au sein même du foyer prolifératif, lequel serait susceptible de faire « tache d'huile ». Scribner et Boutwell, en 1972, ont constaté que des tissus en régénération contiennent des protéines particulières, dont certaines sont peut-être des facteurs d'accélération de la mitose.



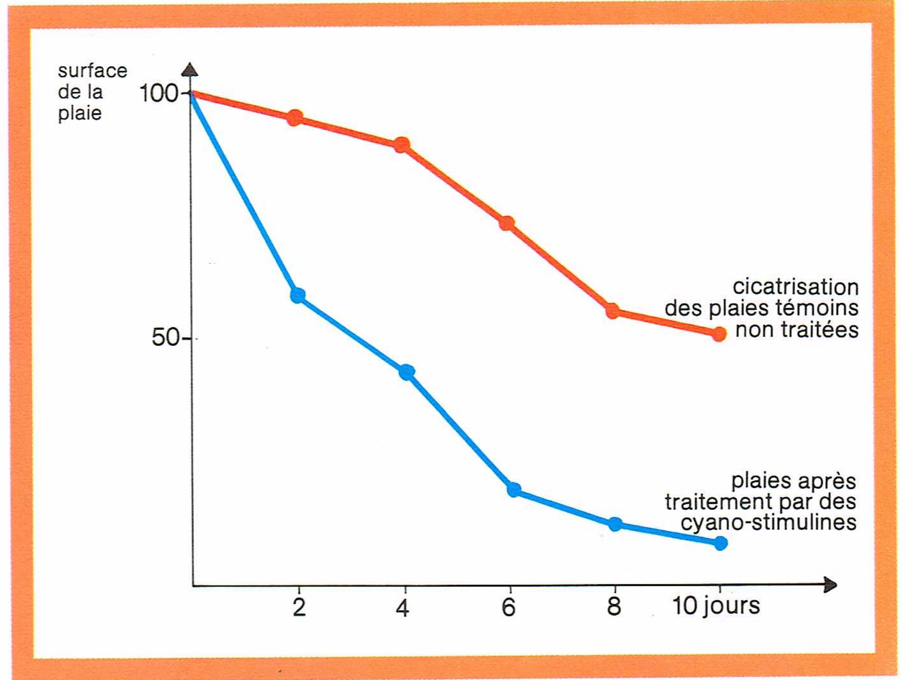
Dans les tissus tumoraux, on a découvert une glycoprotéine qui pourrait jouer ce rôle (Dufour et coll., 1967; Remacle-Bonnet, 1972). Mais, dans l'ensemble, il existe peu d'indications sur de tels facteurs, qui paraissent avoir été peu étudiés.

Dans des tissus lésés, Haberland avait pensé pouvoir mettre en évidence l'existence de *nécrohormones :* celles-ci favoriseraient la prolifération cellulaire, permettant ainsi de compenser la perte de substance vivante entraînée par le traumatisme. Fischer ainsi qu'Éphrussi ont constaté que de tels facteurs mitogènes se développent en culture de tissu quand on enlève une partie de l'explant. Il semble toutefois que l'étude du problème n'ait pas été approfondie.

Quoi qu'il en soit, on sait que des *produits de dégradation des protéines* peuvent accélérer la mitose. Verne et ses collaborateurs, en 1938, ont montré que le *glutathion* a une certaine activité sur des cultures de tissus. Divers auteurs, dont Hammet (1936), ont souligné l'importance des substances *sulphydrilées.* Mais on peut se demander si le renforcement de l'activité mitotique est dû à une action directe ou à une « simple » amélioration du milieu nutritif. Selon Fischer (1950), les acides aminés sont apparemment peu efficaces, alors que les peptides et les polypeptides favorisent la division; il y aurait selon cet auteur une action directe de ces molécules sur la mitose. En 1973, Melbye et Karasek ont émis des doutes sur l'efficacité d'un produit de dégradation très avancée des protéines, la *putrescine;* cette « amine biogène », qui apparaît au sein de tumeurs cancéreuses, est considérée, par Pohjanpelto et Raina, comme un puissant activateur de la multiplication de cellules anormales.

Les *extraits embryonnaires* ont une activité bien connue sur les cultures de tissus. Par exemple, le broyage d'embryons de poulet donne un liquide épais qui, après sédimentation des particules solides, est un remarquable excitant de la division des cellules cultivées; ce fait a été observé dès 1912, par Carrel. Cet extrait est de composition chimique extrêmement complexe; le mélange n'a aucune spécificité zoologique : l'extrait de poulet fait pousser tout aussi bien des cultures de cellules de Mammifères ou d'Oiseaux. Gaillard, en 1942, a montré que son efficacité dépend de l'âge de l'embryon utilisé; fait très intéressant, cet auteur a pu favoriser, *in vitro,* la multiplication puis la différenciation des cellules génératrices de l'os; au lieu d'obtenir une culture de cellules « indifférenciées », de type fibroblastes, comme cela se serait produit s'il avait ajouté au milieu de l'extrait d'embryon jeune, il a provoqué une évolution subnormale en traitant ses cultures par des extraits d'embryons de plus en plus âgés. Bassleer et Chèvremont, en 1973, ont émis l'idée que l'ARN, l'acide pantothénique et la pantéthéine soient les éléments essentiels des extraits, éléments qui s'avèrent actifs non seulement en culture de tissus, mais aussi au cours de la régénération cutanée.

Les *extraits de tissus adultes* ne sont pas sans effets sur la division. Mais les résultats sont extrêmement variables; il y a tout lieu de penser que ces différences sont dues au mode de préparation des extraits et à la nature du matériel cellulaire cultivé. Une chose est certaine : on peut cultiver des tissus grâce à l'apport nutritif et, peut-être, grâce à l'activité excitatrice d'extraits de certains organes adultes (Doljanski et Hoffmann, 1943). De toute manière, il faut avouer que la complexité des extraits a très généralement conduit les expérimentateurs au désespoir. Comme les extraits d'embryons âgés, les extraits de cellules adultes permettent d'obtenir une différenciation en culture : Lewis, en 1917, Odiette, en 1933, et Porter, en 1952, ont ainsi constaté que des fibroblastes peuvent, dans ces conditions, se diviser et synthétiser du matériel permettant l'assemblage de fibres collagènes; Porter y parvint en ajoutant à un milieu de culture synthétique très pauvre (Locke) une petite quantité de bouillon de bœuf. Pruniéras souligna, en 1965, que le sérum prélevé dans le sang de divers animaux permettait la croissance *in vitro* des cellules épidermiques de Mammifères adultes. Depuis lors, divers auteurs ont confirmé les effets du sérum et tenté de préciser son mode d'action (Seifert et Paul, 1972). Melbye et Karasek, en 1973, ont trouvé dans *le derme* un facteur qui excite la multiplication des cellules épidermiques; ce facteur n'est pas une protéine, car il est dialysable. Ce type de recherche doit permettre de reprendre le problème dans des conditions mieux contrôlables; partant d'un tissu donneur et non plus d'un organe, on peut envisager de déterminer la nature des facteurs actifs.



Richard Colin

▲ **Influence de stimulines *extraites d'Algues Cyanophycées sur la cicatrisation de plaies cutanées du mouton; la cicatrisation accélérée est la conséquence d'une stimulation de l'activité mitotique au bord de la plaie (d'après Lefèvre, Laporte et Flandre).***

Il faut citer un type d'expérimentation, fort intéressant, qui tire son principe d'un travail effectué par Prévot en 1964. Cet auteur a montré que l'on pouvait isoler de certaines Bactéries un principe actif stimulant le système réticulo-endothélial (cellules reponsables des phénomènes antixéniques ou de défense). Cette découverte a un double intérêt : d'une part, elle constitue un apport pour la biologie fondamentale et, d'autre part, elle permet de penser que l'on peut augmenter artificiellement les réactions de défense de l'organisme vis-à-vis des Bactéries, des virus, etc. (Halpern, 1964). La phytohémagglutinine (PHA) des Légumineuses a des effets de même nature. En 1965, Lefèvre et ses collaborateurs montraient que des substances extraites d'Algues microscopiques permettaient de hâter la cicatrisation de plaies cutanées, et d'activer, *in vitro,* la multiplication cellulaire.

L'influence des *hormones* sur la prolifération de tissus normaux a fait l'objet d'une revue récente (Epifanova, 1971). Bien évidemment, leur action porte essentiellement sur les *organes cibles* (par exemple, les œstrogènes agissant sur l'appareil génital femelle). Les synthèses d'ADN sont nettement augmentées. Rappelons cependant que les effets des hormones peuvent se faire sentir sur bien d'autres organes (travaux de Bullough). Pullinger, en 1949, établit une relation entre le taux de mitoses observé dans la glande mammaire de souris castrées et la quantité d'œstrogènes qu'il administrait. Lacassagne avait montré, quelques années auparavant, que les œstrogènes étaient indispensables pour déclencher la formation de tumeurs mammaires, à forte activité mitotique, chez la souris femelle ou mâle. En fait, l'action de chaque hormone est *normalement contrebalancée* par celle des autres. Ainsi, la castration chez la souris est suivie de phénomènes endocriniens compensatoires qui modifient l'activité proliférative de la plupart des autres tissus (Wooley et coll., 1939); on pourrait alors estimer que les gonades agissent comme des inhibiteurs de la multiplication incontrôlée des cellules de la surrénale, voire de leur transformation tumorale (Little, 1947). Cependant toutes les hormones ne sont pas mitogènes.

Chez les végétaux, la croissance des tissus est accélérée par les *auxines* et les *kinines.* Ces substances n'ont pas le même mode d'action : les auxines permettent l'accroissement volumétrique des cellules, et les kinines excitent leur prolifération. Les auxines, en favorisant les synthèses, amèneraient la cellule au stade adéquat pour la division; mais seules les kinines permettent la

◀ *Page ci-contre, en bas* **principe de l'électrosmose :** ***en rouge, les ions adsorbés par la paroi du tube, par exemple OH^-; en bleu, les ions libres pouvant être entraînés vers une électrode; ici H^+ est entraîné vers la cathode (—).***


J. Bouchard


J. Bouchard

▲ *A gauche, mise en évidence de l'activité mitotique dans l'ovaire de souris par blocage à la colchicine; les* hormones *hypophysaires, qui stimulent l'activité génitale, provoquent une* accélération du rythme mitotique *(ici, au niveau des cellules folliculaires entourant l'ovocyte). A droite, coupe dans une* tumeur mammaire *de souris (non colchicinée) dont la croissance est très rapide; l'activité sécrétoire de la glande n'est pas abolie, même si elle est anormale. Les tumeurs mammaires de la souris ne se développent spontanément que si le taux des hormones génitales est suffisant (coloration topographique).*

mitose complète. On estime que l'une de ces kinines est l'hormone de blessure, ou acide undécène 1,10-décarboxylique, qui est libéré par lésion ouverte ou par contusion (Apffel, 1959). L'adénine serait une autre kinine. Bien des substances permettant la mitose végétale ont été découvertes. L'une des plus puissantes correspond à la *kinétine,* ou 6-furfurylaminopurine (Miller, 1953-1956). Plus récemment, plusieurs dérivés se sont révélés intéressants. Chez les plantes, la production de ces hormones se fait au niveau des cellules vasculaires. Si l'on trouve certaines kinines dans divers tissus animaux, il semble que leur action soit essentielle seulement chez les végétaux. Pourtant, parmi d'autres travaux, il faut noter ceux d'Orr et Swain (1957), qui ont constaté que ces hormones végétales excitent la mitose dans certaines cultures de tissus humains.

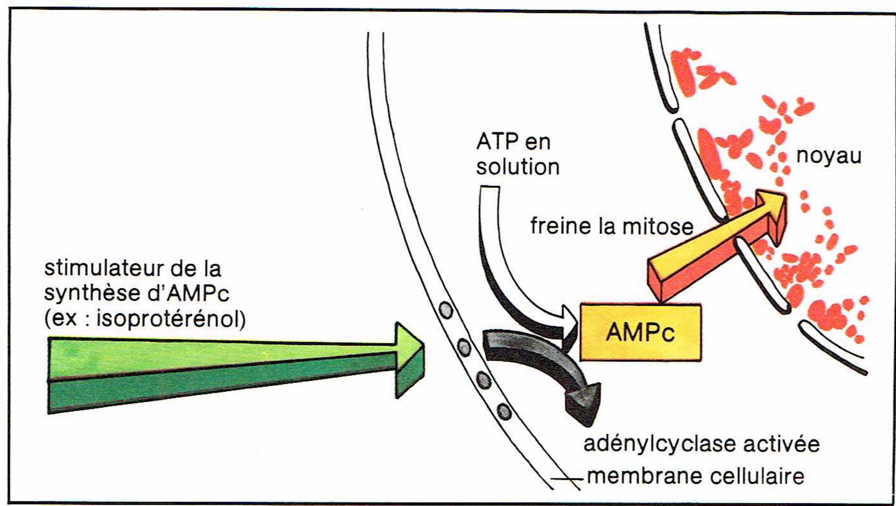
L'AMP cyclique

Depuis 1970, on cherche à savoir si l'AMP cyclique (adénosine 3'-5'-monophosphate cyclique) est un facteur mitogène. Cette substance « à tout faire » est en fait impliquée dans de nombreux mécanismes biochimiques, mais la question n'est pas tranchée dans le cas de la mitose. Mac Manus et Whitfield furent les premiers à montrer que de petites doses d'AMP cyclique stimulent la synthèse d'ADN et la mitose de cultures de cellules sanguines naturellement réprimées (lymphocytes du thymus). Ces résultats furent confirmés *in vivo,* sur des cellules de moelle osseuse et de thymus, par Rixon et ses collaborateurs, en 1970. L'AMP non cyclique n'a aucun effet. L'injection de l'AMP cyclique-dibutyrique marqué induit également la multiplication, et l'on constate que le pool des phosphates de la cellule augmente considérablement (Cros et Ord, 1971). Par contre, Johnson et Abell, en 1970, n'ont obtenu aucun effet de l'AMPc sur les synthèses d'ADN des lymphocytes du sang circulant. En 1972, Avener et ses collaborateurs ont montré que l'AMPc et son dérivé butyrique n'avaient pas toujours des activités identiques, et que celles-ci pouvaient même être radicalement opposées. L'action de l'AMPc exogène est donc bien loin d'être clarifiée.

D'autres chercheurs ont *stimulé la synthèse d'AMPc,* dans des cellules en prolifération. Certaines substances, employées à des doses bien précises, permettent d'y parvenir (citons par exemple l'isoprotérénol, ou la concanavaline A). L'ensemble de leurs résultats montre qu'une élévation de l'AMPc intracellulaire, produite par activation de l'adényl-cyclase, catalyse la synthèse à partir d'ATP, entraîne une inhibition de la division cellulaire (Abell et coll., 1970; Smith et coll., 1971; King et coll., 1972; Sheppard, 1971). D'autre part, certaines conclusions tirées par Otten et ses collaborateurs, en 1971, paraissent être sans équivoque : dans 13 lignées cellulaires différentes, le taux d'AMPc intracellulaire est inversement proportionnel à la vitesse de synthèse d'ADN. Sheppart, en 1972, a confirmé ce résultat en travaillant sur des cellules infestées par des virus et sur des cellules excitées par du sérum, par des enzymes et par l'insuline, qui favorisent la multiplication; dans tous les cas, la concentration intracellulaire d'AMPc diminue. Inversement, la *prostaglandine* E_1, qui est un inhibiteur de certaines cellules tumorales, augmente la synthèse d'AMPc.

Tout n'est pas dit sur cette substance. En effet, certains chercheurs estiment que l'AMPc pourrait être un *signal* de déclenchement de la mitose; ensuite, sa concentration diminuant dans la cellule, la division s'effectuerait (Abell et coll., 1973). En fait, l'analyse de cellules normales montre que le taux de ce nucléotide varie durant le cycle cellulaire et qu'il est minimal pendant la mitose (Zeilig et coll., 1972).

Cependant, depuis quelque temps, on se pose des questions au sujet d'un autre nucléotide, GMPc, dont l'effet sur la mitose serait peut-être au moins aussi important (Hadden et coll., 1972), comme intermédiaire entre le plasmalemme et l'ADN nucléaire.



Richard Colin

Les facteurs freinateurs

Outre les antimitotiques déjà évoqués et les substances toxiques dépourvues de toute activité spécifique, certains facteurs chimiques peuvent freiner la multiplication.

L'*héparine* est un produit naturel qui, expérimentalement, peut inhiber la division de l'œuf de chætoptère, par exemple (Heilbrunu et Wilson, 1949). Elle agit sur les propriétés physiques de la cellule; on en trouve dans un grand nombre d'organismes. Ce mucopolysaccharide acide complexe (sulfaté) peut être détecté sur coupes histologiques, ou par l'analyse d'extraits tissulaires. Il en existe aussi bien chez les Bactéries que chez les Échinodermes. Son rôle est important chez les Vertébrés : elle possède des propriétés anticoagulantes, bien connues. Dès 1935, Jorpes avait décelé sa présence dans les *mastocytes* qui existent en plus ou moins grande abondance au sein de tous les revêtements conjonctifs des Mammifères. Et, de fait, l'héparine est un produit de sécrétion des mastocytes, qui la libèrent dans des conditions physiologiques très variées, ce qui constitue la « dégranulation » (Asboe-Hansen, 1957). Or, on trouve un très grand nombre de mastocytes dans divers cas de tumeurs, en particulier lors de la tumorisation de l'épiderme de la souris (Fiore Donati et coll., 1962; Scelsi et Bertoli, 1969; Kim Yong Whan, 1970, etc.); selon Levillain et ses collaborateurs (1972), l'héparine favorise l'action de certains antimitotiques; Mizuno et Fujii ont montré, en 1969, que l'héparine ou des MP voisins se trouvent sécrétés durant les processus de cicatrisation et de tumorisation. L'ensemble des résultats laisse à penser qu'une partie des produits de sécrétion des mastocytes joue un *rôle régulateur au cours des phases de prolifération cellulaire;* cependant, de nouvelles expériences sont, bien sûr, nécessaires. Remarquons, en outre, que l'héparine modifie la charge des membranes cellulaires (Hagmar Bjorn, 1972); il est alors vraisemblable que la perméabilité et donc la viscosité du cytoplasme, qui dépend de l'ionisation intracellulaire, s'en trouvent altérées.

Dans n'importe quel tissu, les cellules s'inhibent mutuellement; on parle d'*inhibitions de surface*. Le phénomène a été découvert par Medawar, et, depuis, de nombreuses recherches ont été effectuées dans ce domaine. Chaque type cellulaire porte des sites récepteurs à la surface de son plasmalemme, d'où l'importance des expériences concernant le *cell-coat*. Des modifications du coat peuvent entraîner la disparition des inhibitions de surface; ainsi, Chapron a constaté, en 1972, que la dopamine, amine biogène précurseur de l'adrénaline, modifie la glycocalix et lève les inhibitions. Les inhibitions de contact sont levées lors de la « transformation » de cellules en cultures, c'est-à-dire durant leur cancérisation, ou au moment de la « régénération » d'un épithélium stratifié, comme l'épiderme, à plusieurs couches de cellules (Mac Nutt et coll., 1973). Selon Heidrich et Ryan (1971), le taux d'AMP cyclique des cellules dépendrait des inhibitions de surface. Cependant, pour Seifert et Paul (1972), le contact entre les cellules n'affecte pas l'AMPc, du moins dans leurs conditions de travail... Son taux dépendrait uniquement des facteurs mitogènes contenus dans le sérum servant aux cultures.

Nous savons que les *histones* jouent un rôle dans la régulation des synthèses d'ADN. Il est très vraisemblable que les *protéines acides* sont au moins aussi importantes; leur mode d'action, apparemment fort complexe, n'est pas encore connu (Courtois, Dastugue et Kruh, 1974).

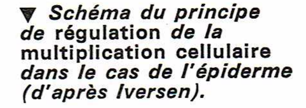
D'autre part, Bullough et son équipe ont découvert, dans les tissus normaux, des substances qui limitent la multiplication cellulaire. Ces substances, les *chalones*, seraient spécifiques de chaque tissu. Elles ont été mises en évidence chez diverses espèces animales (Bullough et Laurence, 1960-1970; Iversen, 1969; Hennings et coll., 1969; Frankfurt, 1971, etc.). Ce sont les expériences de cicatrisation et de régénération qui ont permis d'envisager l'existence de telles substances. En effet, dans ces cas, on peut penser, avec Paul Weiss (1955), que les cellules qui jouxtent la blessure se multiplient grâce à l'intervention positive d'hormones traumatiques; mais, si l'on est sceptique quant à l'efficacité de ces hormones, on peut imaginer que les cellules du tissu normal sécrètent en permanence une substance permettant une sorte d'*autorégulation du tissu;* dans ce cas, après la blessure, les cellules survivantes devraient perdre la propriété de sécréter cette substance et se trouveraient ainsi libérées sur le plan mitotique. Ce raisonnement a entraîné Bullough et ses collaborateurs dans un vaste travail expérimental. Utilisant l'épiderme de la souris, ces chercheurs parvinrent à extraire un agent freinateur sécrété durant la maturation des cellules normales; selon eux, cet agent pourrait être perdu, en partie avec les cellules desquamées et en partie par diffusion dans le derme. Il pourrait aussi être instable. En fait, dès 1957, Weiss et Kavanau avaient émis l'idée de l'existence de tels facteurs; ils avaient même publié une théorie générale de la croissance et de la régénération envisagées sous un angle cybernétique. En 1962, Iversen et Evensen parvinrent à vérifier cette théorie en comparant des séries de résultats expérimentaux et des séries de courbes théoriques établies par le calcul.



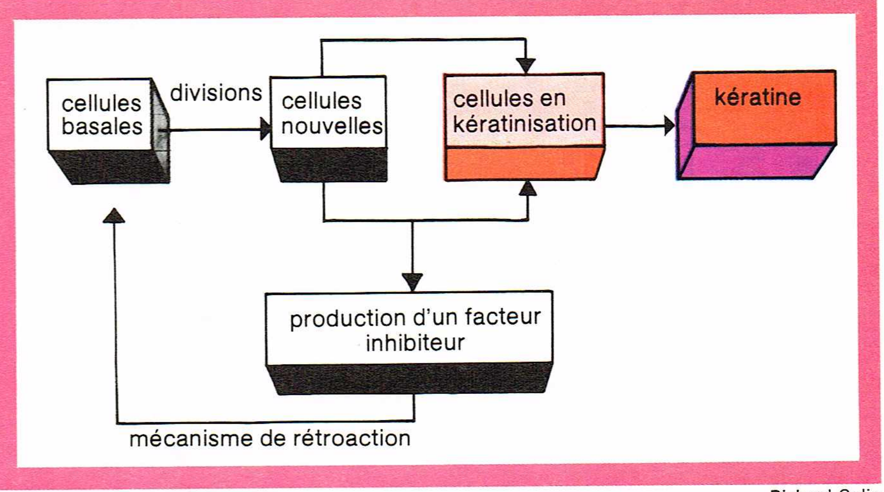
J. Bouchard

◀ *Coupe effectuée dans une tumeur expérimentale de l'épiderme de souris. En haut, trois groupes de cellules tumorales d'un vert bien différent de celui du conjonctif sous-jacent; les mastocytes, dont on considère qu'ils freinent la mitose par libération d'héparine, forment ici un cordon rouge-orangé (coupe à congélation; coloration par l'orange d'acridine et observation en lumière UV).*

◀ *Page ci-contre, en bas, élévation expérimentale de la synthèse d'AMP cyclique (AMPc) et inhibition mitotique.*



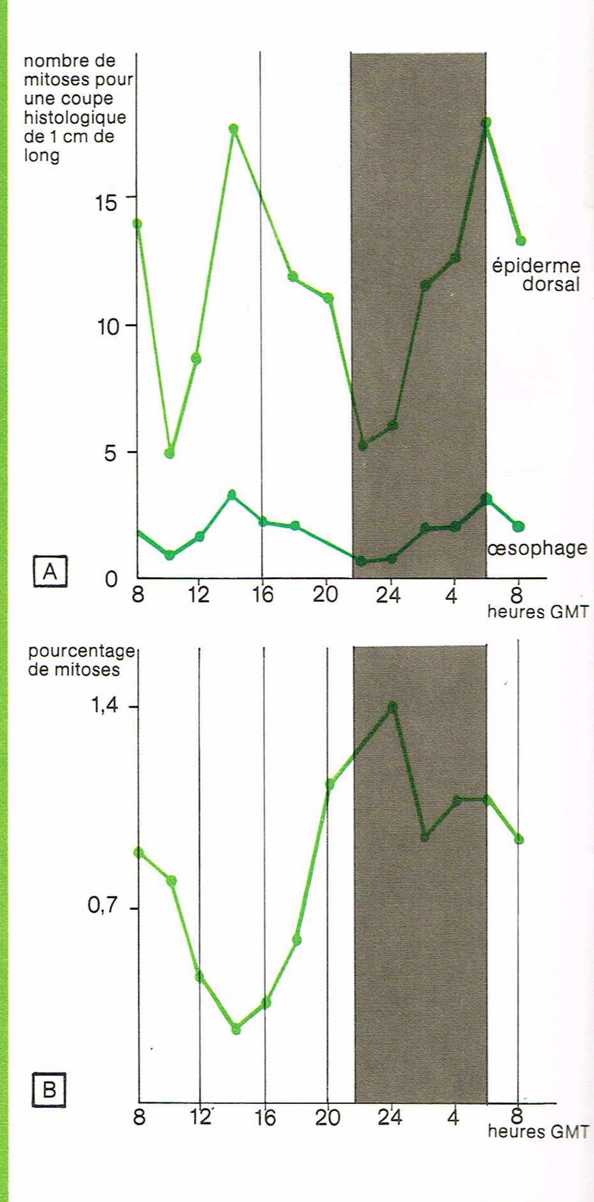
▼ *Schéma du principe de régulation de la multiplication cellulaire dans le cas de l'épiderme (d'après Iversen).*



Richard Colin

stimulation par un cancérigène (3 - méthylcholanthrène)
nombre de cellules en % par rapport à la normale
120
100
courbe calculée
déséquilibre de "l'homéostasie mitotique"
130
120
110
100
1 2 4 6 8 10 12 14 21 jours
courbe réelle

Richard Colin



Richard Colin

▲ *A gauche, vérification du mécanisme de régulation proposé par Bullough et Iversen, dans le cas de la peau stimulée par un cancérigène : la courbe théorique a été établie par ordinateur en tenant compte des données de l'épiderme normal et du mécanisme schématisé plus haut.*

A droite, A, mise en évidence d'un rythme mitotique dans des tissus épithéliaux de Mammifère (souris) [d'après Bullough]; B, rythme mitotique dans l'épiderme de souris « hairless » (mutant à peau nue) : ce graphique, s'il est comparé au précédent, montre qu'il y a de grandes variations suivant la souche d'animaux étudiés (d'après Evensen).

L'activité des chalones serait renforcée par l'*adrénaline*. Dès 1962, Bullough et Laurence avaient constaté que les hormones de la surrénale (glucocorticoïdes, adrénaline et noradrénaline) sont antimitotiques pour plusieurs tissus. La surrénalectomie produit une réaction inverse. Mieux, un *stress* produit une émission d'adrénaline et, secondairement, le taux mitotique baisse, au niveau de l'épiderme par exemple ; si l'on met la peau en culture, on constate que les mitoses redeviennent nombreuses, et cela d'autant plus que le choc a été plus fort ; donc, l'adrénaline agit sur la préprophase (G_2) sans inhiber les synthèses préparatoires.

Ces résultats ont conduit Bullough à interpréter les variations du taux mitotique normal observées durant une période de 24 heures *(rythme nycthéméral)*. Selon lui, durant la période d'activité des souris, l'organisme est soumis à des stress multiples, impliquant l'émission d'adrénaline. Pour Evensen, qui obtient d'ailleurs une courbe totalement différente, les taux mitotiques observés n'ont aucun rapport avec l'activité mitotique proprement dite : à un taux élevé correspond non pas une forte activité de division, mais un allongement de la mitose (1963) ; selon lui, le *taux réel* des divisions resterait le même durant 24 heures. En fait, il existe bien un rythme nycthéméral, ou circadien, qui concerne essentiellement la durée de la mitose, et ce rythme est aboli par ablation des surrénales. Bien que l'existence d'un complexe chalone-adrénaline ait été mise en doute, en 1971, par Laurence et Hansen, le débat n'est pas clos (Bassleer et Chèvremont, 1974).

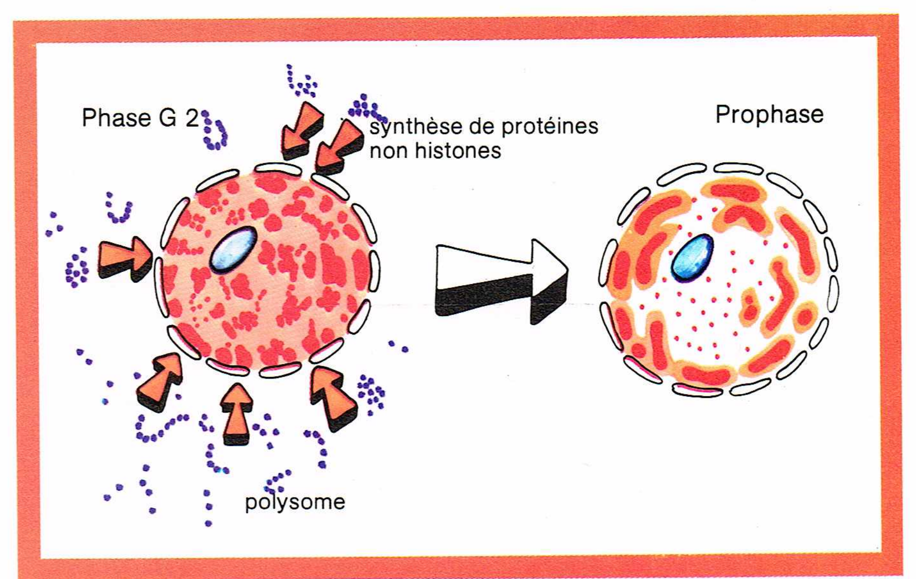
Quoi qu'il en soit, on ne doute plus guère de l'existence des chalones. Certains chercheurs ont pu en isoler à partir de différents tissus. Selon Verly et ses collaborateurs (1971), il s'agit de molécules de taille moyenne, essentiellement de petits polypeptides ; dans l'épiderme, la chalone serait une glycoprotéine. Si l'on prend le cas de l'épiderme humain, relativement épais, il apparaît que la chalone, synthétisée par les cellules en maturation, qui sont repoussées vers la surface de la peau, diffuse jusqu'à l'assise génératrice profonde et freine l'activité mitotique (Iversen et coll. ; Elgjo et coll. ; Bullough et coll.). Le même phénomène de diffusion a été constaté pour un tissu lâche hématopoïétique (Paukovitz, 1971).

De très nombreux chercheurs travaillent actuellement sur le problème des chalones. Il est vraisemblable que divers facteurs naturels, intrinsèques et extrinsèques, peuvent entraver l'activité mitotique ; les chalones sont sans doute parmi les plus intéressants. On peut se demander si les chalones agissent toujours de la même façon sur tous les tissus ; pour Bullough et Laurence (1966), elles agissent à la fin de la phase G_2 ;

toutefois, dans le cas du foie, organe extrêmement pauvre en mitoses, le blocage se ferait en fin de « présynthèse », entre les phases G_1 et S (Verly et coll., 1971 et 1973).

Un essai d'interprétation du cycle mitotique

Avant la mitose, ou phase M du cycle, il se passe dans la cellule des événements nombreux, bien que très discrets pour l'observateur, et que les techniques biochimiques et histochimiques permettent d'entrevoir. La phase de synthèse d'ADN nucléaire, ou phase S, est encadrée par les phases G_1, puis G_2. Mais ces « gaps » ne sont pas de simples trous dans l'activité biosynthétique; en G_1, il se forme des ARN et des protéines; il en est de même en G_2, *mais la nature des produits n'est pas identique*. Ainsi, les *protéines non histones* (essentiellement acides) sont fabriquées surtout en G_1; selon Salas et Green (1971), il pourrait s'agir de protéines initiatrices des synthèses d'ADN; pour Mitchison (1971), « l'initiateur », d'origine cytoplasmique, devrait atteindre un *degré critique* pour jouer son rôle : dès 1968, on a pu montrer, chez les Mammifères, que les synthèses d'ADN commençaient au contact de la membrane nucléaire, là où s'attachent les fibres de chromatine (Comings et Kakefuda). Remarquons, à ce sujet, que la duplication de l'ADN se fait de façon nettement asynchrone; certains chromosomes se répliquent précocement, d'autres le font très tardivement; et, dans un type cellulaire donné, on constate que le processus est remarquablement constant (Taylor, 1960; Cleaver, 1967; Charret, 1969; Sandritter, 1970; etc.). Durant les phases S et G_2, les activités enzymatiques sont augmentées (Vendrely, 1971). Chaque enzyme se forme à un moment précis du cycle. En G_2, bien que le taux d'ADN nucléaire ait doublé, ainsi que celui des histones et d'une bonne partie des autres protéines, la *cellule est encore incapable de se diviser;* durant cette période, *il apparaît de nouvelles protéines acides,* caractéristiques et manifestement indispensables pour que se déclenche la mitose (Stein et Baserga, 1972). Au total, juste avant celle-ci, on a généralement le *même rapport :* 4 ADN/4 protéines (Bassleer, 1968). *Mais il ne suffit pas toujours que les taux tétraploïdes soient atteints pour que la mitose se produise;* dans divers cas, la cellule devient octoploïde (8 ADN/8 protéines). *En fait, on ne connaît pas le facteur qui permet la mitose.* Mais, si, par un antimitotique tel que le myleran, on freine la synthèse d'ADN, le taux de protéines continue d'augmenter, et, en général, la cellule ne se divise pas, sauf dans le cas de certaines cellules tumorales (Bassleer et coll., 1973). Ainsi, diverses études expérimentales montrent que le génome consiste en une *combinaison fixe d'ADN, d'histones et de protéines acides*. Les protéines acides seraient-elles régulatrices de la mitose ? Il s'agirait alors d'une régulation immédiate. Notons ici un fait capital : *juste avant la mitose, le taux de protéines non histones qui se lient à l'ADN double brutalement;* ces protéines, qui étaient momentanément en réserve au voisinage de la chromatine, se combinent à celle-ci au dernier moment; cela n'est pas le cas pour les histones (Hancock, 1969).

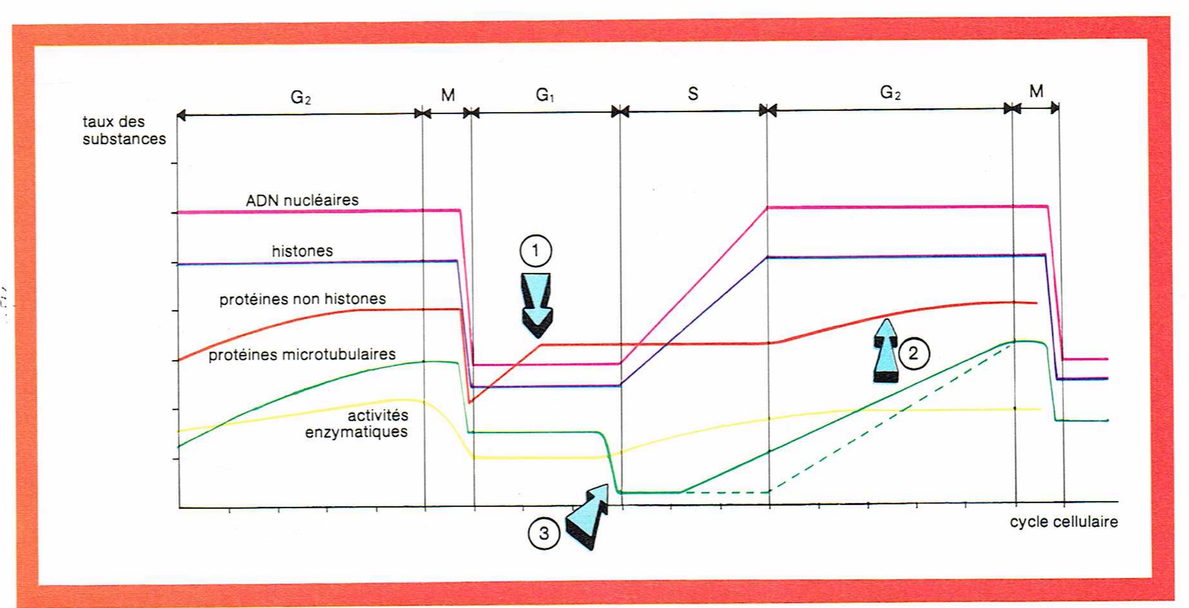


Richard Colin

▲ ***Représentation schématique illustrant les données de Hancock, selon lesquelles les protéines non histones, d'abord accumulées dans le noyau, se lient brutalement à l'ADN juste avant le déclenchement de la mitose.***

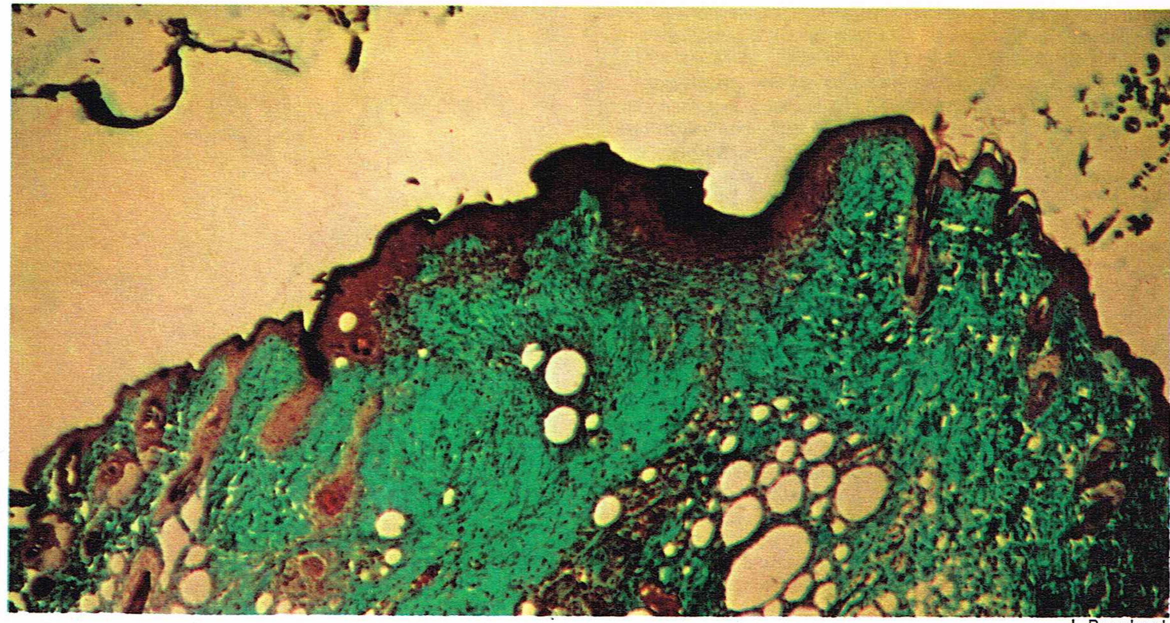
Que peut-on dire *du stock de protéines microtubulaires* (SPM) ? Forrest et Klevecz, en 1972, ont montré que la synthèse du SPM s'effectue en G_2 ou dès le milieu de la phase S dans certaines souches cellulaires. Or Gelfant avait déjà constaté, en 1963, que, dans un épiderme en *cicatrisation*, donc durant une période de *grande activité mitotique, la phase G_2 est très courte,* sinon inexistante : on doit donc envisager, dans le cas de la cellule normale, la possibilité d'un *effet inhibiteur du SPM en excès*. Remarquons d'abord que, après la mitose, les protéines microtubulaires dépolymérisées persistent dans la cellule durant toute la phase G_1 : leur destruction précède immédiatement la nouvelle phase S (Forrest et Klevecz); donc, la mitose qui suit est sous la dépendance directe des synthèses de protéines microtubulaires effectuées en G_2. Des résultats obtenus avec l'épiderme de souris traité à la colchicine tendent à confirmer l'hypothèse d'un blocage. Supposons qu'il en soit ainsi :

— Une étude des effets progressifs de la colchicine sur le taux mitotique de l'épiderme normal montre que cette substance, qui *provoque d'abord une dénaturation* d'une partie du SPM, déclenche ainsi le processus d'entrée en mitose : on note l'existence d'une onde précoce de mitoses normales; ensuite, la dénaturation se poursuivant, apparaît une deuxième onde de mitoses, qui, cette fois, correspondent aux stathmocinèses (septième heure).



Richard Colin

◀ ***Variations du taux de substances*** **qui sont essentielles** ***pour la*** **mitose** ***: ici les valeurs relatives sont totalement arbitraires et uniquement destinées à fixer les idées du lecteur; les flèches bleues 1 et 2 indiquent la formation en deux temps des*** **protéines non histones*****; la flèche 3 indique la dégradation du*** **stock de protéines microtubulaires.** ***Les données actuelles ne sont pas suffisantes pour établir des courbes correspondant aux divers ions de la cellule.***



▶ ***Aspect de tissu** épidermique **cicatriciel** chez la souris; on repère bien le niveau de section de la peau : l'épiderme est très épaissi par rapport à la normale (coloration topographique).*

J. Bouchard

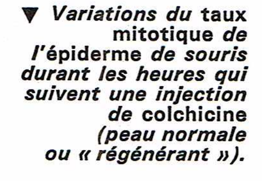
— Dans un épiderme en cicatrisation-régénération, la première onde de mitoses n'apparaît pas; on trouve seulement l'onde tardive de stathmocinèses. Si l'on se souvient que, dans ce cas, l'épiderme est fait de cellules à phase G_2 très écourtée, alors qu'elle peut durer *15 jours* dans l'épiderme normal (Gelfant, 1962-1966), on est en droit de penser que les cellules en régénération ne subissent aucune action freinatrice de la part du SPM; sitôt terminées les synthèses indispensables, elles se divisent sans attendre; puis, en présence de colchicine, la mitose s'effectue sur ce même rythme, conduisant à l'accumulation de métaphases bloquées. Ici, l'antimitotique *ne déclenche pas* l'apparition de l'onde précoce de mitoses *libérées* de l'influence du SPM, puisque celui-ci n'est nullement excédentaire.

Peut-on envisager que, durant G_2, le SPM soit lié aux protéines acides? Au moment de la mitose, l'utilisation d'une partie du SPM pour l'élaboration de l'appareil achromatique permettrait alors la libération de protéines acides et leur brusque liaison avec l'ADN. Souvenons-nous que les antimitotiques dépolarisants, qui empêchent la formation des asters, puis du fuseau, n'entravent pas la condensation des chromosomes, ni leur clivage (du moins si les concentrations utilisées n'ont pas d'effet de type radiomimétique). On obtient même des cellules qui peuvent être hautement polyploïdes!

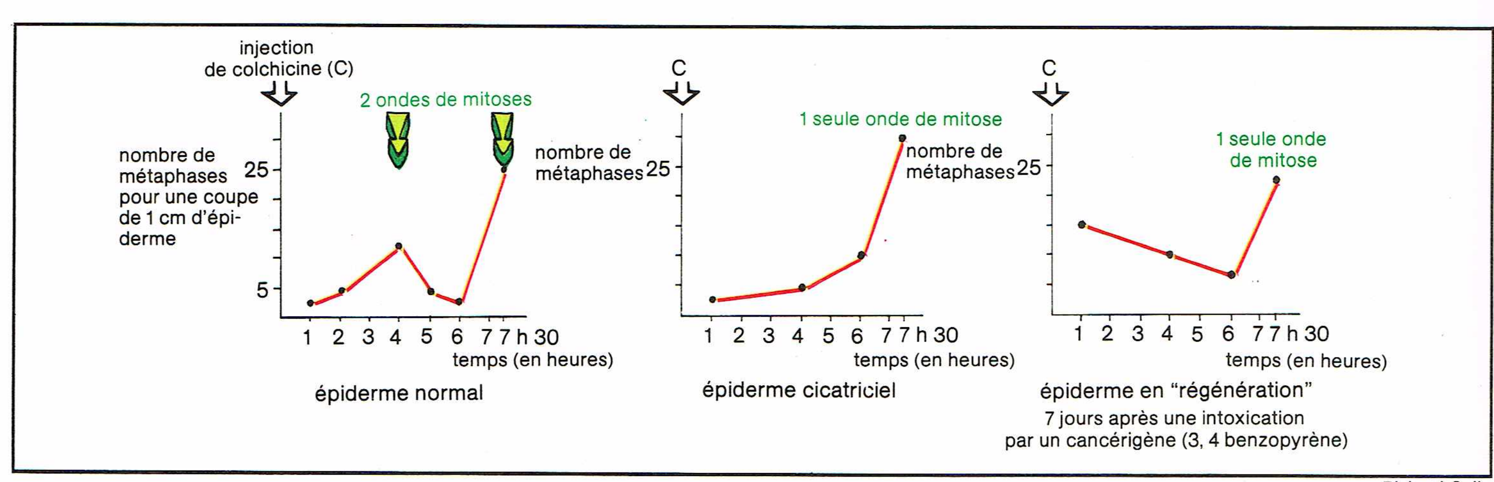
Comme pour la plupart des phénomènes biologiques, la division cellulaire est sous la dépendance de mécanismes antagonistes. La cellule normale synthétise des substances, telles que les chalones, dont le rôle est d'inhiber sa multiplication et celle des cellules voisines. Par contre, lors de lésions qui impliquent une réparation tissulaire, la sécrétion d'inhibiteurs serait diminuée, voire bloquée, ce qui permettrait à des hormones ou à des substances excitatrices (nouvellement formées?) d'entraîner la préparation de la cellule, puis l'entrée en mitose. En fait, on ne sait pratiquement rien de précis quant à l'influence éventuelle non seulement des hormones, mais également de toutes les autres substances drainées par le liquide intercellulaire. Pourtant, il faut bien les étudier si l'on veut tenter d'expliquer l'entrée en mitose de l'œuf et des Unicellulaires. La division est un phénomène périodique, et cette pulsion doit essentiellement dépendre de facteurs très généraux. L'influence de l'ionisation du milieu est certainement méconnue. On sait maintenant que les variations du potentiel membranaire se produisent durant le cycle de multiplication; il importe de savoir si cela correspond à des variations de concentration ionique au sein de la cellule. Divers chercheurs s'intéressent depuis peu à ces problèmes déterminants (Williams et Lœb, 1973; Sachs et coll., 1974; Timourian et coll., 1974). N'oublions pas que les ions jouent un rôle essentiel dans la configuration, la structure tertiaire des macromolécules, et que, durant la mitose, d'énormes variations structurales affectent les constituants cellulaires.

Mitose et différenciation

A priori, on peut penser que la division n'est possible que pour les cellules indifférenciées ou, du moins, peu spécialisées. Autrement dit, la différenciation impliquerait une diminution considérable de l'activité mitotique, voire son arrêt total. Bien qu'un peu schématique, ce point de vue correspond, dans l'ensemble, à une réalité : cependant, tout porte à croire que l'activité mitotique d'une grande variété de cellules « indifférenciées » demeure faible sinon nulle; après une période de « repos » plus ou moins longue, c'est-à-dire correspondant à une



▼ ***Variations du taux mitotique** de l'épiderme de souris durant les heures qui suivent une injection de **colchicine** (peau normale ou « régénérant »).*



Richard Colin

inhibition qui peut être due aux facteurs du milieu, elles peuvent reprendre leur activité mitotique. S'il *apparaît*, dans l'ensemble, que la mitose et la différenciation sont des processus qui s'excluent mutuellement, il faut souligner que la réalité est plus complexe. Comme nous avons eu l'occasion de le voir, la différenciation n'est pas un état immuable; la culture de cellules *in vitro* ou même des variations du milieu intercellulaire de l'individu entraînent une modulation au degré de différenciation et l'apparition de nouvelles mitoses.

Des cellules différenciées peuvent fort bien se diviser; c'est évidemment le cas pour les Unicellulaires, mais aussi pour des cellules de Mammifères; les exemples ne sont pas très nombreux comme on doit s'en douter, mais on peut citer le cas de tumeurs thyroïdiennes, à cellules hautement différenciées, et qui, cependant, se divisent activement; ce phénomène s'observe aussi dans les tumeurs mammaires de la souris. L'activité mitotique *peut* donc n'avoir aucun rapport avec le degré de différenciation apparent.

En fait, dans l'organisme normal, les cellules peuvent évoluer dans plusieurs voies; certaines conservent le pouvoir de se diviser très activement, alors que d'autres se différencient de façon définitive (cellules épidermiques, cellules kératinisées); mais il en existe qui, différenciées ou non, quittent temporairement le cycle de la mitose, mais gardent la possibilité d'y revenir après stimulation; c'est le cas des cellules hépatiques ou des fibrocytes qui sécrètent le collagène. Pour certains biologistes, les cellules différenciées, mais en attente, seraient en phase G_1 du cycle, tandis que d'autres estiment qu'il existerait une phase distincte, ou G_0, dont les caractéristiques sont encore très mal connues (Lajtha, 1963; Epifanova et coll., 1969). De plus, n'oublions pas que, dans certains tissus, les cellules peuvent rester pendant des semaines en G_2.



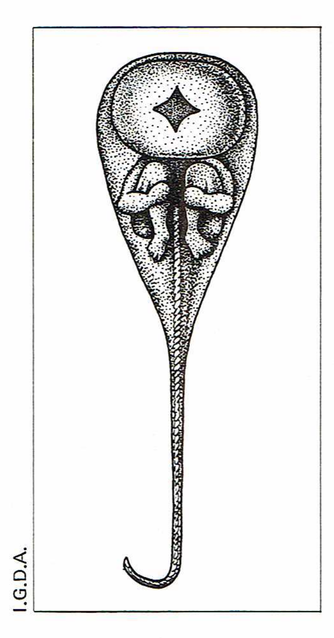
J. Bouchard

◀ *Dans certaines conditions, la transplantation d'un fragment d'organe sous la peau de la souris provoque la prolifération de l'épiderme et des follicules pileux qui se trouvent au voisinage du transplant. L'image histologique rappelle ce que l'on observe dans les jours qui suivent un badigeonnage de l'épiderme avec une solution cancérigène (coloration topographique).*

BIBLIOGRAPHIE FONDAMENTALE

ABELL C.W. et MONAHAU T.M., *The Role of Cyclic AMP in the Regulation of Mammalian Cell Division*, in *J. Cell Biol*, v. 59, n° 3, 1973. - BASSLEER R. et CHÈVREMONT M., *le Cycle cellulaire et ses modifications expérimentales par des agents antimitotiques,* in *Bull. Assoc. Anatom.*, v. 57, n° 159, 1973. - BERKALOFF A., BOURGUET J., FAVARD P. et GUINNEBAULT M., *Biologie et physiologie cellulaire,* Hermann Éd., Paris, 1973. - BESSIS M., *Traité de cytologie sanguine,* Masson Éd., Paris 1954. - BIESCLE J.J., *On The Mechanisms of Antimitotic Action as Studied with Cancer Cells and Antimetabolites in Path. Biol.*, v. 9, n° 5-6, 1960. - BLOOM W. et FAWCETT D., *A Textbook of Histology,* Saunders Éd., Philadelphie, Londres, Toronto, 1968. - BOISSEAU Cl., *Étude ultrastructurale de l'oviducte du triton Pleurodeleswaltlic,* in *J. Microsic,* v. 18, n° 3, 1973. - BULLOUGH W.S. et LAURENCE E.B., *The Diurnal Cycle in Epidermal Mitotic Duration and its Relation to Chalone and Adrenalin,* in *Exp. Cell Res.*, v. 43, 1966. - *The Role of Glucocorticoid Hormones in the Control Epidermal Mitosis (Mouse),* 1968. - *Chalone Control of Mitotic Activity in Sebaceous Glands,* in *Cell. Tissue Kinetics*, v. 3, n° 3, 1970. - CHÈVREMONT M., *Cytologie et histologie,* Desoer, Éd., Liège, 1956. - DENIS H., *Précis d'embryologie moléculaire,* Presses universitaires de France, 1974. - DURAND M. et FAVARD P., *la Cellule,* Hermann Éd., Paris, 1972 (4e tirage). - DUSTIN P. Jr., *Some Recent Adventice in the Study of Microtubules and Microtubule Poisons,* in *Archives de biologie*, t. 85, Bruxelles, 1974. - DE DUWE C., *The Lysosome Concept,* Ciba Found., Reuck et Cameron Éd., Londres, 1963. - *Les Lysosomes,* in *la Recherche*, n° 49, 1974. - EIGSTI O. et DUSTIN P. Jr., *Colchicine in Agriculture, Medecine, Biology and Chemistry,* The Iowa *State College Press, Ames,* 1957. - GARRETT R.A. et WITTMANN H.G., *Structure et fonction du ribosome,* in *Endeavour,* t. 23, n° 115, 1973. - GUELFANT S., *The New Theory on the Mechanism of Cell Division,* in *Cell Growth and Cell Division,* Acad. Press Éd., New York et Londres, 1963. - GUILLÉ E. et QUÉTIER F., *Heterochromatic, Redundant and Metabolic DNAs: a New Hypothesis about their Structure and Function,* in *Progress Bioph. Molec. Biol.*, v. 27, 1973. - HOURDRY J., *Données cytologiques et cytochimiques sur l'évolution des lysosomes,* in *Ann. Biol.*, fasc. 9-10, 1968. - HUGHES A., *Mitotic Cycle,* Butterworths Éd., Londres, 1952. - IVERSEN O.H., *Chalones of the Skin,* Ciba Foundat. Symposium (Homeostat Regulators), Londres, 1969. - KARLSON P., *Biochimie,* Doin Éd., Paris, 1964. - KUDO R.R., *Protozoology,* Thomas Éd., Springfield, Illinois, 1954. - LANGERON M., *Précis de microscopie,* Masson Éd., Paris, 1942. - LEVINE L., *The Cell in Mitosis (Symposium),* Acad. Press. Éd., New York et Londres, 1963. - LISON L., *Histochimie et cytochimie animales,* Gauthier-Villars Éd., Paris, 1960. - MAGNAN CP., *Traité de microscopie électronique,* Hermann, Éd., Paris, 1961. - MOOSEKER M. et TILNEY L.G., *Isolation and Reactivation of the Axostyle. Evidence for a Dynein-like ATPase in the Axostyle,* in *J. Cell Biol.*, v. 56, n° 1, 1973. - NORTHCOTE PH., *l'Appareil de Golgi,* in *Endeavour,* t. 30, 1972. - ODARTCHENKO N., *Production cellulaire érythropoïétique,* Springer-Verlag Éd., Berlin, Heidelberg, New York, 1968. - OVTRACHT L., MORRÉ D.J., CHEETHAM R.D. et MOLLENHAUER H.H., *Subfractionation of Golgi Apparatus from Rat Livers: Method and Morphology,* in *J. Microsc.*, vol. 18, n° 1. - ROTH D., LONDON M. et MANJON M., *Binding Specificity and Affinity of Acriflavine for Nucleic Acids in Stain Technol.*, v. 42, n° 3, 1967. - SENTEIN P., *l'Action des antimitotiques pendant la segmentation de l'œuf et le mécanisme de cette action,* in *Path. et Biol.*, v. 9, n° 5-6, 1960. - *Le Mécanisme normal de la mitose pendant la segmentation de l'œuf d'Urodèle,* C.R. Acad., Sc., 253. - *La Dynamique de l'appareil achromatique et ses relations avec la dynamique de la segmentation dans l'œuf d'Urodèle,* in *C.R. Acad., Sc.*, v. 253, 1961. - *Dissociation des différents mécanismes de la mitose de segmentation,* in *C.R. Acad. Sc.*, v. 254, 1962. - *Formation du diastème dans la segmentation normale et remaniement artificiel de la fibrillogenèse par des substances chimiques,* Congrès d'embryologie, Orsay, 1968. - *Le Blocage de la centrosphère dans l'œuf en segmentation et sa signification,* in *Bull. Assoc. Anatom.*, n° 149, 1970. - SINCLAIR J.H. et STEVENS B.J., *Circular DNA Filaments from Mouse Mitochondria,* in *Proceed Nation. Acad. Sc.*, v. 56, n° 2, 1966. - VOLFIN P., *la Mitochondrie : centrale énergétique de la cellule,* la Recherche, n° 15, 1971. - WATSON J.D., *Biologie moléculaire du gène,* Édiscience Éd., Paris, 1968. - VOLFE, *Biology of the Cell,* Wadsworth, Éd., Belmont, Californie, 1973.

CYCLES DE REPRODUCTION ET SEXUALITÉ



I.G.D.A.

▲ **L'« homunculus »** ***que les premiers cytologistes virent dans la tête d'un spermatozoïde humain.***

Les chapitres précédents ont permis d'analyser la structure et la multiplication de la cellule, cette unité élémentaire de la vie. Nous y avons décrit les modalités de la division cellulaire normale, la *mitose,* et le rôle essentiel joué par certains organites cellulaires, les *chromosomes,* supports de l'information génétique. Dans le monde vivant, beaucoup d'espèces ne sont pas constituées d'individus unicellulaires; en particulier, tous les organismes vivants que l'on peut voir facilement à l'œil nu sont des êtres pluricellulaires composés de centaines, de milliers, de millions, voire même de milliards de cellules. Le problème de la reproduction de ces organismes a été posé bien avant que l'on connût l'existence de la cellule, mais il ne fut correctement résolu que le jour où prit corps la théorie cellulaire.

Jusqu'au milieu du XVII[e] siècle, il était admis qu'un certain nombre d'espèces d'ordre inférieur apparaissaient par génération spontanée et que de la pourriture naissaient asticots, limaces, grenouilles, Insectes, etc. Mais, à cette époque, comme le dit Jean Rostand, « une réaction se dessine un peu partout contre la superstition, le préjugé théologique et le principe d'autorité. L'esprit critique s'éveille ou se libère à la fois d'Aristote et de la Bible ». On ne veut plus croire, on veut comprendre; les observations se font plus minutieuses et l'expérimentation commence. C'est cet esprit qui animait l'Italien Francesco Redi lorsqu'il plaça des morceaux de viande dans des bocaux, dont certains furent laissés ouverts tandis que les autres étaient recouverts d'une gaze. Quelques jours après, les viandes contenues dans les fioles ouvertes étaient remplies de vers, alors qu'il n'y en avait aucun dans les fioles bouchées. La viande était donc incapable par elle-même de produire des asticots. La présence de ceux-ci n'était due qu'à la ponte des mouches.

Cette expérience paraît aujourd'hui d'une simplicité enfantine, mais à son époque elle était révolutionnaire, comme l'a bien montré Jean Rostand : « L'expérience de Redi avait une portée considérable. Ce qui est vrai des larves de mouches ne le serait-il pas aussi des autres bêtes ou plantes qu'on croit engendrées de la sanie ou de la décomposition ? Partout où l'on penche à voir une genèse équivoque ou spontanée, n'a-t-on pas affaire à un développement de germe inaperçu ? C'est, en effet, ce que pense Redi. Il faut, d'après lui, renoncer à la vieille doctrine qui fait naître le vivant du non-vivant. Entre le vif et l'inerte, la séparation est beaucoup plus tranchée qu'on ne l'imaginait de prime abord. Si la matière vivante peut périr, la matière morte, elle, ne peut s'animer, et donc, tout ce qui vit provient nécessairement d'une vie préexistante. »



G. Dagli Orti

▶ **Francesco Redi** ***(1626-1698) [Musée d'histoire naturelle, Florence].***

Cette conception de la continuité vitale ne fut cependant totalement admise que deux siècles plus tard, après les expériences de Pasteur, car la révélation, grâce au microscope, de l'existence de tant de « petites bêtes » redonna aux partisans de la génération spontanée l'espoir que les Bactéries et les Infusoires pouvaient apparaître spontanément dans un milieu convenable.

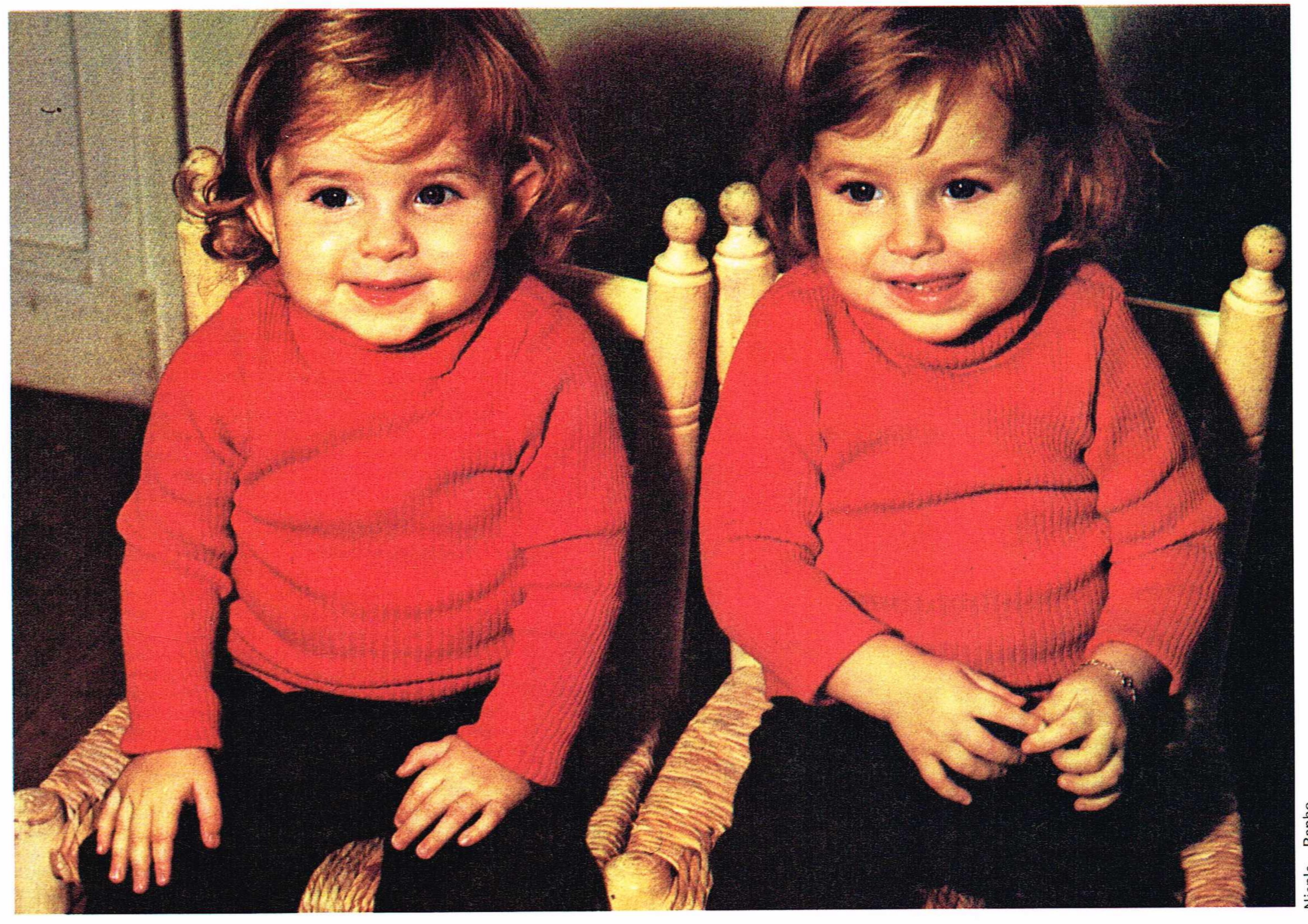
Avant même que fût posé le problème de la génération spontanée, il était admis que, chez les espèces supérieures, l'embryon naissait et s'organisait par une sorte de fermentation de la masse fluide et amorphe constituée par le mélange des semences des deux parents. D'après cette théorie, dite de l'*épigenèse,* l'embryon se constituait spontanément à partir du milieu formé par les semences, de la même manière que les asticots se formaient spontanément à partir de la viande. A ces idées, héritées de la Grèce antique, s'opposèrent celles des *préformationnistes.* Pour résoudre le problème posé par le passage de l'inorganisé à l'organisé, ces derniers supposaient qu'il existait dans la semence un embryon préformé que la nourriture dilatait et amplifiait. La question se posa alors de savoir laquelle des semences mâle et femelle apportait le germe contenant l'embryon préformé. A ce sujet, les avis étaient divergents. Les *ovistes* pensaient que le germe était dans l'œuf et que le rôle du parent mâle se réduisait à stimuler la croissance du petit animal qui y était contenu. Mais, lorsqu'en 1677 furent découverts les « animalcules » qui existent dans le sperme, beaucoup de naturalistes considérèrent que c'étaient les spermatozoïdes qui contenaient les germes. Un cytologiste alla même jusqu'à dessiner un petit « homunculus » dans la tête du spermatozoïde.

Au cours du XVIII[e] siècle, aucun argument décisif ne permit de départager les partisans de l'épigenèse et de la génération spontanée des partisans des germes. Toutes les observations accumulées au cours de cette période semblaient renforcer chacune des deux écoles. Elles préparèrent toutefois la naissance de la théorie qui permit de mettre tout le monde d'accord : la *théorie cellulaire,* formulée, en 1839, par les biologistes allemands Schleiden et Schwann.

Ces chercheurs définirent la cellule et son noyau comme l'unité élémentaire de la vie. Jean Rostand décrit ainsi l'importance de cette conception : « Cette théorie ne tarda pas à s'imposer dans le double domaine de la zoologie et de la botanique. Son succès fut immédiat, aucune résistance n'entrava ses progrès. C'est qu'elle correspondait exactement à l'état où se trouvait déjà parvenue la science de la vie. Nullement révolutionnaire, venant juste à son heure, comme appelée par les faits, elle groupait en une vaste et cohérente synthèse un ensemble de données généralement admises, qui n'attendaient que d'être ainsi rassemblées et ordonnées pour s'éclairer les unes par les autres. »

Le développement embryonnaire put être expliqué par des divisions, des transformations ou des déplacements de cellules, et l'origine de chaque individu ramenée à la formation de la cellule œuf. La cellule œuf associe l'idée de germe avec l'idée de préformation puisqu'elle contient en puissance l'être futur et qu'elle n'est pas quelque chose d'amorphe.

Les rôles respectifs de l'ovule et du spermatozoïde dans la fécondation furent éclaircis par Oscar Hertwig qui, en 1875, assista à la fusion de leurs deux noyaux dans l'œuf fécondé d'oursin. Il interpréta et généralisa cette observation en affirmant que la fécondation consiste essentiellement en la fusion de deux noyaux : le noyau d'origine maternelle, celui de l'ovule, et le noyau d'origine paternelle, celui du spermatozoïde. A la même époque, Édouard Strasburger décrivait la division cellulaire, ou mitose, et mettait l'accent sur le comportement de certaines particules facilement colorables, qui se divisent en deux. En 1888, ces particules seront appelées chromo-


Nieple - Rapho

▲ ***La ressemblance, si frappante, qui existe entre les vrais jumeaux permet d'illustrer la reproduction conforme, ou mitose, et la différenciation cellulaire.***

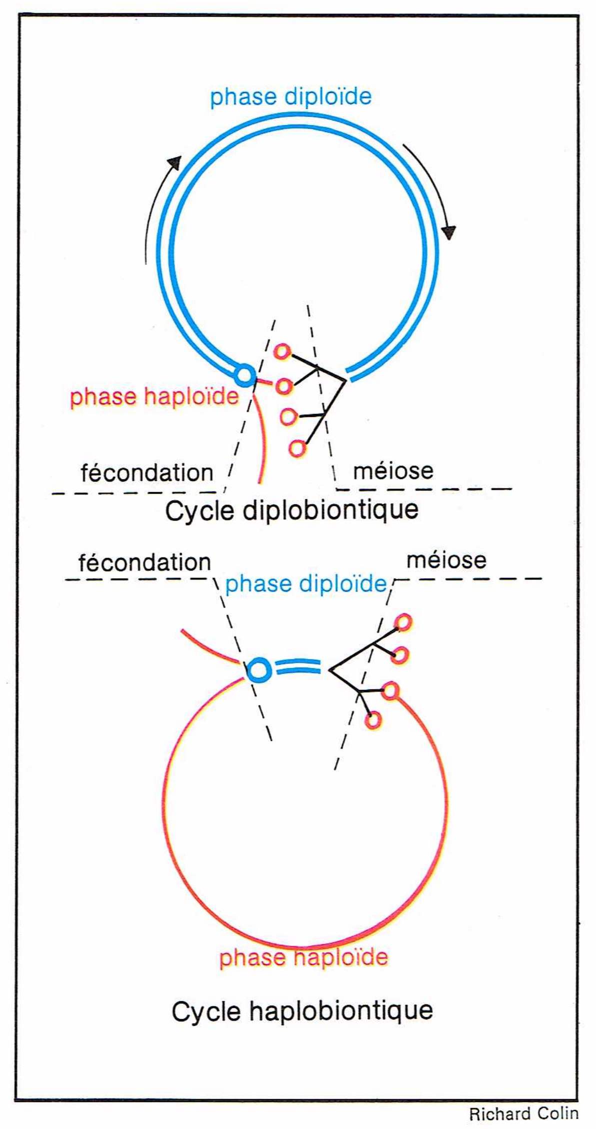
somes. Une constatation très importante fut alors faite par Édouard Van Beneden sur l'ascaris, un ver parasite de l'intestin. Van Beneden observa, d'une part, que le nombre de chromosomes dans les noyaux des ovules est identique au nombre de chromosomes dans les noyaux des spermatozoïdes et, d'autre part, que ce nombre représente la moitié de celui présent dans les cellules qui donnent naissance aux gamètes (ovules ou spermatozoïdes). C'était la mise en évidence de la réduction chromatique au cours de cette division cellulaire particulière que représente la *méiose*. Grâce à ces résultats, apparut alors l'idée que les chromosomes pouvaient être les organites jouant le rôle prépondérant dans les phénomènes d'hérédité. C'est sur cette base que Weismann développa sa *théorie chromosomique de l'hérédité*, théorie qui ne connut son plein développement que plus tard, en 1900, lorsque furent redécouvertes les lois énoncées par Mendel dès 1865. Morgan put alors faire la corrélation entre la ségrégation des caractères et la ségrégation des chromosomes. Les principales règles qui régissent la formation des êtres pluricellulaires étaient ainsi connues.

Après ce rapide historique, voyons maintenant comment se pose le problème de la reproduction sexuée dans le cadre de la théorie cellulaire, étant établi d'autre part que les chromosomes sont le support de l'information génétique. La première chose qui frappe quand on examine l'ensemble des représentants d'une espèce donnée, par exemple l'espèce humaine, c'est la très grande variabilité à l'intérieur d'un même schéma d'organisation. Si l'on étudie par exemple les cheveux, on remarque que, d'une part, tous les individus de l'espèce humaine en sont ou en ont été pourvus, mais, que, d'autre part, ces cheveux peuvent être crépus, frisés, plats, blonds, châtains ou noirs. La présence de cheveux est une caractéristique constante de l'espèce humaine; par contre, leur structure peut varier énormément. Ce genre de constatation peut être fait pour une quantité d'autres caractères, et les possibilités de combinaison de ces caractères sont telles qu'il n'existe pas, à part quelques exceptions, deux individus absolument identiques.

Les exceptions sont de deux types : d'une part, celles dues au hasard, dans les cas très rares où l'on observe les mêmes caractères dans deux individus différents non apparentés (ce sont les *sosies*), et, d'autre part, les *jumeaux* univitellins, c'est-à-dire les jumeaux issus d'un même œuf. La ressemblance si frappante qui existe entre les vrais jumeaux permet d'illustrer la reproduction conforme, ou mitose, et la différenciation cellulaire, dont l'étude sera entreprise dans des chapitres ultérieurs. A l'origine des vrais jumeaux, il n'y a qu'une cellule œuf dont les produits de la première division (la première mitose), au lieu de rester accolés ensemble pour constituer un seul organisme, se séparent et constituent chacun un organisme entier. Ces deux cellules donnent naissance à deux organismes parfaitement identiques, montrant ainsi qu'à l'issue de la mitose elles étaient identiques dans leurs potentialités.

Ces potentialités s'expriment au cours du développement embryonnaire, pendant lequel les cellules se spécialisent peu à peu et n'expriment plus qu'une partie de leurs possibilités. C'est cette spécialisation qui rend les cellules si différentes les unes des autres dans un organisme, ces différences d'aspect ne traduisant pas des échecs de la mitose mais simplement des expressions différentes des possibilités cellulaires. Si on fait abstraction de tous les facteurs externes qui agissent sur ce développement, et ils sont très nombreux, on peut dire que l'individu est défini dès que l'œuf est constitué. La grande variabilité que l'on observe au niveau des différents individus d'une même espèce correspond donc, dans la majorité des cas, à la variabilité des potentialités des différents œufs qui leur ont donné naissance. D'où

▶ *Représentation schématique d'un* **cycle diplobiontique** *et d'un* **cycle haplobiontique;** *l'espèce humaine, dont la très grande majorité des cellules est diploïde, est définie comme une espèce diplobiontique.*

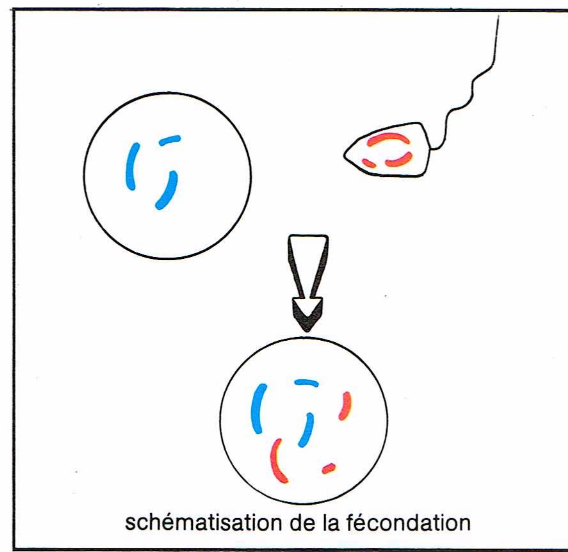


Richard Colin

▶ *Page ci-contre, représentation schématique de la* **méiose.**

vient cette variabilité? Si l'on considère un couple de parents, on s'aperçoit que les descendants, bien qu'ayant certaines caractéristiques de leur père ou mère, sont très différents les uns des autres; un couple donné de parents est donc capable de donner des œufs très différents les uns des autres. Sachant qu'un œuf est constitué par la fusion d'un ovule et d'un spermatozoïde, c'est au niveau de ces gamètes qu'il nous faudra rechercher la variabilité observée.

▶ **La fécondation** *est le phénomène qui, par la fusion de deux gamètes haploïdes, conduit à la formation d'une cellule diploïde, appelée œuf ou zygote.*



schématisation de la fécondation

Richard Colin

Notion de cycle

Chaque espèce est caractérisée par l'existence d'un nombre défini de chromosomes dans chacun des noyaux de chacune de ses cellules. Pour l'espèce humaine, ce nombre est de 46. Nous avons vu que les gamètes contiennent moitié moins de chromosomes (par exemple, les ovules et les spermatozoïdes humains ne contiennent chacun que 23 chromosomes). Lors de la fécondation, l'union de l'ovule et du spermatozoïde permet de rétablir le nombre de 46 chromosomes. Par définition, on dira que les cellules à 46 chromosomes sont *diploïdes* et que les gamètes à 23 chromosomes sont *haploïdes*. Une autre façon d'exprimer cet état de choses est de dire que chaque gamète ne contient qu'un seul lot de chromosomes et que la cellule œuf issue de la fusion des deux gamètes en contient deux lots, ou 2 *n* chromosomes. Dans la genèse d'un individu on peut ainsi définir deux phases : la *phase haploïde*, c'est-à-dire la phase où les cellules ne contiennent que *n* chromosomes (pour l'espèce humaine, cette phase est représentée par nos gamètes), et la *phase diploïde*, c'est-à-dire la phase où les cellules contiennent 2 *n* chromosomes; cette dernière phase est la phase prépondérante pour l'espèce humaine ainsi que pour tous les animaux ou végétaux supérieurs; c'est celle que constitue notre corps, dont la quasi-totalité des cellules est diploïde. Les seules cellules haploïdes que nous ayons sont les gamètes que nous produisons.

Le mécanisme particulier qui régit la formation de ces gamètes pour permettre ainsi la réduction chromatique, le passage de la phase diploïde à la phase haploïde, est la *méiose*, ensemble de divisions cellulaires particulières dont nous analyserons plus loin les modalités.

Comme on vient de le voir, les cellules de l'espèce humaine sont dans leur très grande majorité des cellules diploïdes : l'espèce humaine est ainsi définie comme une espèce à *cycle diplobiontique* par opposition aux espèces à *cycle haplobiontique,* dont la majorité des cellules est haploïde. Les espèces à *cycle haplodiplobiontique* sont les espèces dont les phases haploïde et diploïde ont toutes les deux une certaine importance. Les espèces à cycle diplobiontique se caractérisent donc par une phase haploïde très réduite : le nombre de générations cellulaires réalisé par les cellules haploïdes est très réduit, et la méiose, c'est-à-dire le mécanisme qui permet le passage de la phase diploïde à la phase haploïde, est immédiatement suivie par la fécondation, mécanisme qui permet le passage de la phase haploïde à la phase diploïde.

Chez les espèces à cycle diplobiontique, les gamètes sont directement les produits de la méiose. Les espèces à cycle haplobiontique, par exemple les Champignons, ont, au contraire, une phase diploïde très réduite : la fécondation, qui permet la constitution d'une cellule diploïde, est immédiatement suivie par la méiose.

Ainsi, les gamètes ne sont plus les produits de la méiose; ils ne sont, parmi toutes les cellules de la phase haploïde, que des cellules particulières, celles qui participent à la fécondation.

La fécondation et la méiose sont donc les deux mécanismes qui constituent les charnières d'un cycle. Ils permettent respectivement le passage de la phase haploïde à la phase diploïde et le passage de la phase diploïde à la phase haploïde. Nous allons examiner plus en détail ces deux mécanismes, plus particulièrement celui de la méiose; celle-ci permet en effet de rendre compte de l'énorme brassage génétique qui a lieu d'une génération à l'autre.

La fécondation

Comme nous venons de le voir, la fécondation est le phénomène qui, par la fusion de deux gamètes haploïdes, conduit à la formation d'une cellule diploïde, appelée *œuf,* ou *zygote;* la fécondation permet ainsi le passage de la phase haploïde à la phase diploïde.

Dans la majorité des espèces, la fécondation a lieu entre des gamètes de tailles différentes; on dit qu'il y a *anisogamie*. Le gamète femelle est immobile et possède un cytoplasme riche en réserves. Le gamète mâle, beaucoup plus petit, est mobile et ne contient que très peu de cytoplasme. Cette disparité dans les tailles des deux

gamètes est en rapport avec une différence au niveau de leur participation respective dans la constitution du cytoplasme et des réserves de l'œuf. Par contre, chaque gamète contribue de façon équivalente à la fabrication du noyau de l'œuf : chacun des deux gamètes contient *n* chromosomes. Une fois que la fusion des deux cellules est réalisée, la cellule œuf contient les deux noyaux haploïdes. Ces deux noyaux fusionnent à leur tour et le nouveau noyau contient ainsi la somme des chromosomes apportés par chacun des gamètes : ce nouveau noyau est diploïde.

Pour simplifier la suite de l'exposé, nous appellerons les *n* chromosomes apportés par l'un des gamètes : « chromosomes rouges », et les *n* chromosomes apportés par l'autre gamète : « chromosomes bleus ». Les deux gamètes apportent dans l'œuf non seulement le même nombre de chromosomes, mais aussi les mêmes types de chromosomes. Par exemple, si l'un des deux gamètes apporte un petit, un grand et un très grand chromosome, l'autre gamète apportera également un petit, un grand et un très grand chromosome. Dans le noyau diploïde issu de la fécondation, chaque chromosome rouge se retrouvera donc en présence de son chromosome homologue bleu (les exceptions à cette règle seront envisagées au cours de l'étude du déterminisme du sexe).

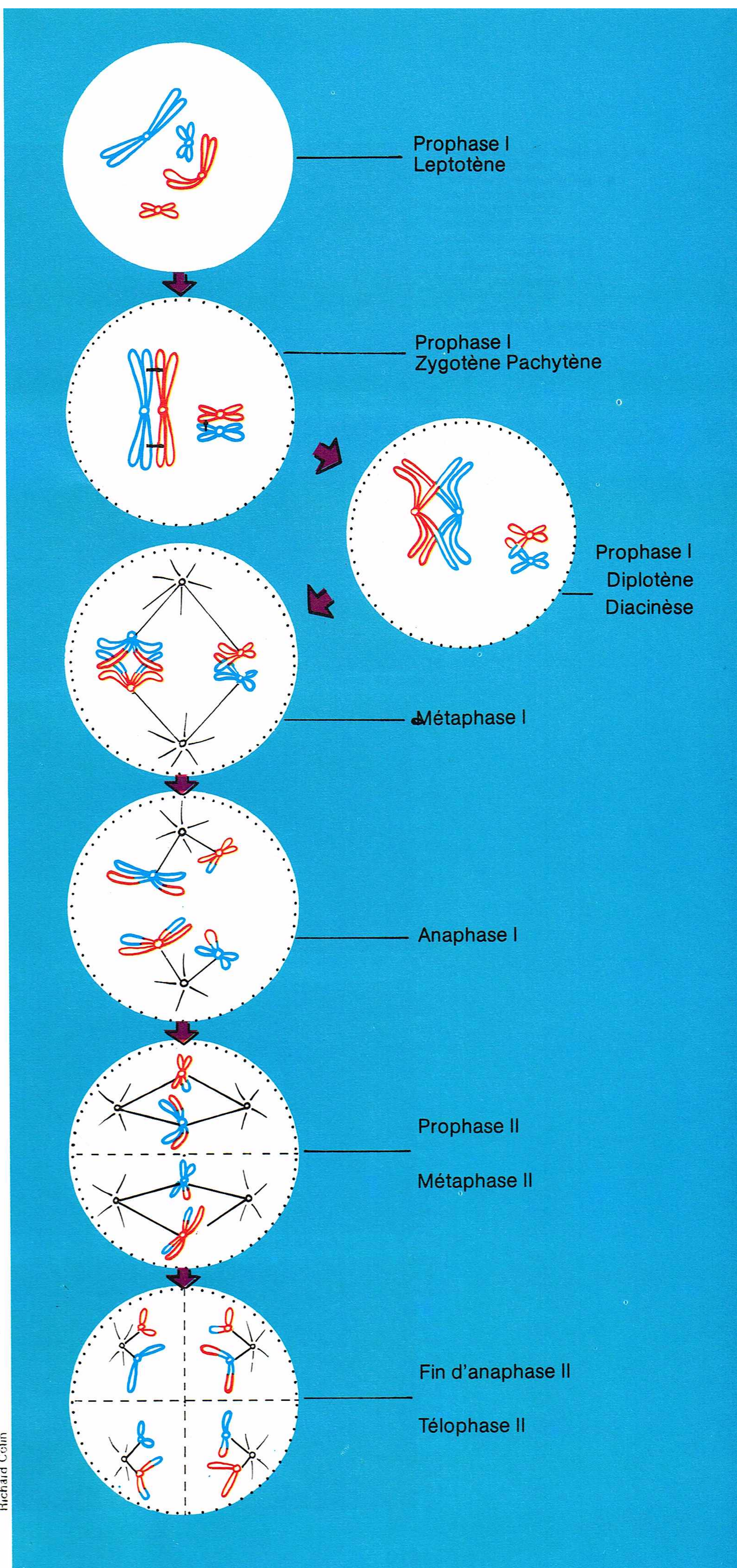
Dans le cas d'un cycle diplobiontique, le noyau diploïde se divise suivant les modalités de la mitose, et ainsi tous les noyaux qui en descendent sont identiques entre eux et contiennent chacun 2 *n* chromosomes : *n* chromosomes bleus et *n* chromosomes rouges. Par exemple, dans le cas de l'espèce humaine, la quasi-totalité des cellules de notre corps contient 46 chromosomes : 23 nous viennent de notre mère, et les 23 autres nous viennent de notre père. Parmi toutes les cellules, les seules qui ne soient pas diploïdes sont les gamètes, haploïdes. Ceux-ci descendent de cellules diploïdes qui, en se divisant, n'ont pas suivi les modalités de la mitose, qui maintient le nombre de chromosomes, mais ont suivi les modalités d'un autre type de division cellulaire : la méiose.

La méiose

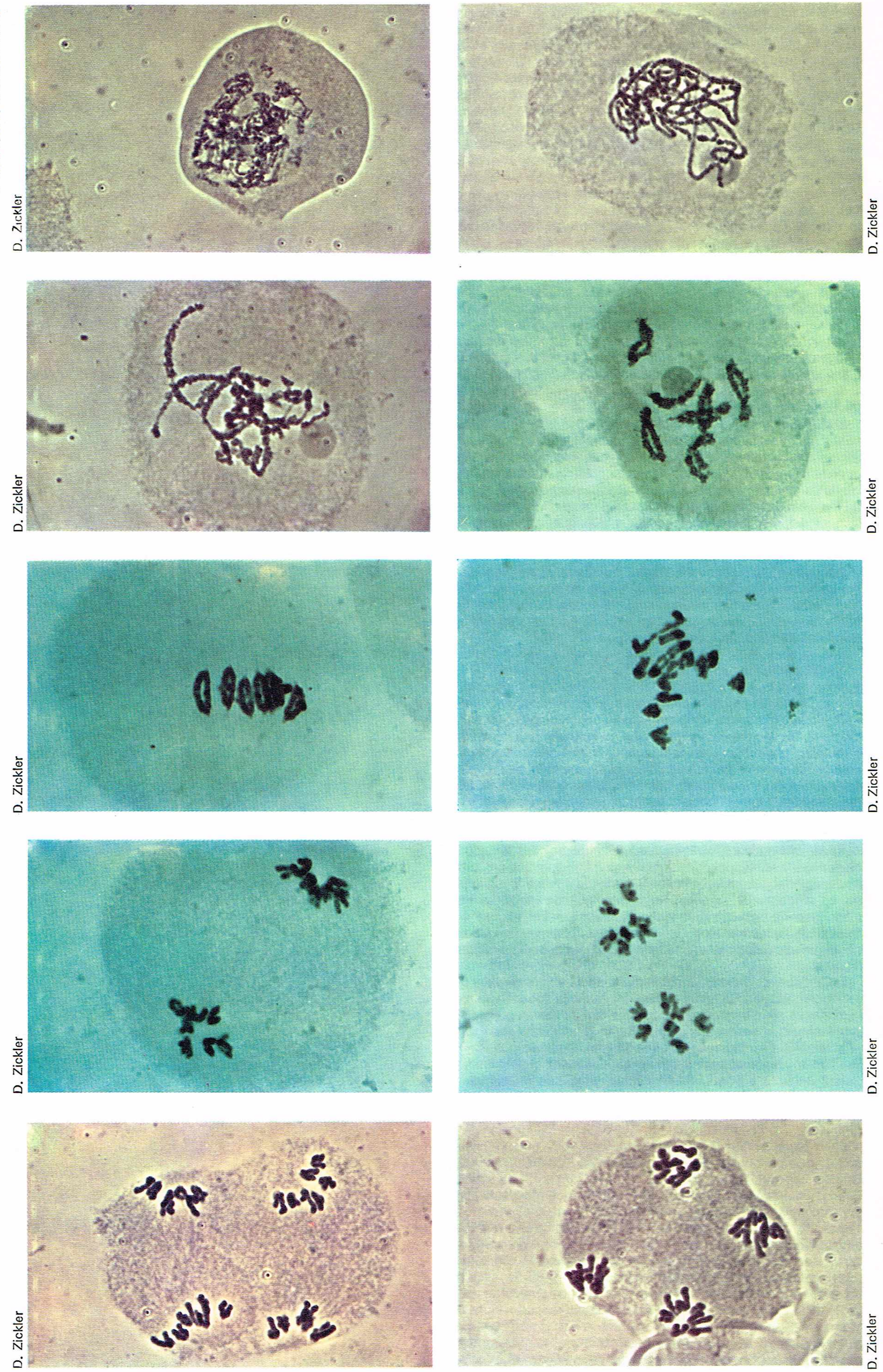
On appelle méiose les processus nucléaires qui permettent le passage de la phase diploïde à la phase haploïde. La méiose est un ensemble de deux divisions cellulaires dont seule la première est précédée d'une duplication des chromosomes. Pour en comprendre mieux les mécanismes, nous considérerons une cellule diploïde issue de la fécondation des deux gamètes portant *n* chromosomes bleus et *n* chromosomes rouges. Le noyau de la cellule qui va subir la méiose est ainsi constitué de 2 *n* chromosomes. Rappelons que, dans la plupart des organismes, chaque chromosome est doté d'un seul centromère, strictement localisé, organite qui commande les mouvements des chromosomes. Nous appellerons centromères bleus les centromères des chromosomes bleus et centromères rouges les centromères des chromosomes rouges.

De même que pour la mitose, alors que le mécanisme est continu, on peut décrire la méiose comme une séquence d'événements touchant les chromosomes : prophase I, métaphase I, anaphase I, télophase I, puis prophase II, métaphase II, anaphase II et télophase II. Du fait de la complexité et de la durée des événements qui se déroulent pendant la première partie de la première division de la méiose, la prophase I a été subdivisée en stades : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacinèse.

La méiose débute, comme la mitose, par une visualisation des chromosomes à l'intérieur du noyau : ceux-ci, au nombre de 2 *n*, apparaissent sous forme de très fins filaments *(stade leptotène)*. Chacun de ces filaments est déjà composé de 2 molécules d'ADN, dont la réplication s'est faite avant que des événements optiquement visibles aient eu lieu. Aux stades suivants *(zygotène* et *pachytène)*, on observe un *appariement des chromosomes*. C'est le phénomène le plus caractéristique de la méiose (il est totalement absent de la mitose). Chaque chromosome, tout en se condensant, c'est-à-dire en se raccourcissant et en devenant plus épais, s'apparie à son chromosome homologue. Cet appariement se fait point par point, centromère à centromère, bout de chromosome à bout



▶ *La* méiose *chez le seigle; de haut en bas et de gauche à droite : stade* leptotène; *stade* zygotène; *stade* pachytène; *stade* diplotène; métaphase 1; *début d'*anaphase 1; *fin d'*anaphase, *début de* télophase 1; métaphase 2; anaphase 2; télophase 2.



de chromosome, chromomère à chromomère et, en anticipant l'étude des gènes, gène à gène. Lorsque chaque chromosome rouge s'est ainsi apparié à son homologue bleu, le noyau contient alors *n* paires de chromosomes appariés *(n bivalents)*.

Dès la fin de l'appariement, on peut observer que chaque chromosome est formé de 2 *chromatides* étroitement accolées. Chaque chromatide contient une molécule d'ADN : c'est la visualisation de la duplication de l'ADN. Au total, chaque bivalent comptera ainsi 4 chromatides, 2 rouges et 2 bleues, mais n'a encore, à ce stade, que 2 centromères, 1 centromère rouge et 1 centromère bleu.

Aux stades suivants de la prophase I *(diplotène* et *diacinèse)*, on observe que les chromosomes continuent à se condenser et apparaissent de plus en plus courts et épais. Alors qu'au cours des stades précédents les chromosomes homologues s'étaient appariés de façon très étroite, au cours du diplotène et de la diacinèse, les chromosomes ont tendance au contraire à se séparer comme s'ils se repoussaient. En fait, ils ne se séparent pas entièrement, car ils restent attachés les uns aux autres en un certain nombre de points appelés *chiasmas*.

Une observation attentive montre que les chiasmas ne sont en fait que des points où les chromatides appariées changent de partenaire. Autrement dit, alors qu'au début de la division chaque chromosome rouge, constitué d'un centromère rouge et de deux chromatides rouges, s'était apparié à un chromosome bleu ayant lui aussi son centromère et ses deux chromatides, on observe qu'au niveau des chiasmas des échanges ont eu lieu : un morceau de chromatide bleue prend la place de son homologue rouge et réciproquement. Un centromère bleu, par exemple, se retrouve associé avec une chromatide bleue et une autre chromatide dont une partie est bleue et une extrémité est rouge. Réciproquement, le centromère rouge homologue se retrouve associé avec une chromatide rouge et une chromatide dont une partie est rouge et une extrémité est bleue.

Les points du chromosome où se forment des chiasmas ne sont pas déterminés à l'avance : à chaque méiose, leur nombre et leur position varient. Ils sont disposés de façon aléatoire sur les bras des chromosomes. Les chiasmas sont la visualisation d'événements qui se sont déroulés au cours de la phase d'appariement. Nous verrons plus loin les conséquences génétiques de ces échanges entre chromatides.

Durant la fin de la prophase I (stade *diacinèse*), la condensation des chromosomes est devenue très intense ; ceux-ci ne restent attachés qu'au niveau de leurs chiasmas. D'ailleurs, ces derniers commencent leur terminalisation, c'est-à-dire glissent vers les extrémités des chromosomes : les chromatides qui ont subi des échanges glissent l'une sur l'autre, sous l'effet des forces de répulsion qui semblent exister au niveau des chromosomes. Les croisements entre chromatides que l'on peut observer à ce stade tardif de la prophase ne correspondent donc plus aux lieux où des échanges se sont opérés.

Au cours de la *métaphase*, les *n* bivalents se disposent sur le plan équatorial, de telle sorte que les deux centromères de chaque bivalent sont de part et d'autre du plan.

A l'*anaphase*, les centromères sont tirés vers les pôles de la cellule et amènent avec eux les chromosomes qui leur sont liés. A la fin de ce stade, de chaque côté de la cellule, on trouve ainsi *n* chromosomes composés chacun de 2 chromatides.

La deuxième division de la méiose commence immédiatement sans qu'il y ait une nouvelle synthèse d'ADN. D'un point de vue cytologique, cette seconde division ressemble beaucoup à la mitose d'une cellule haploïde (*n* chromosomes). La première partie *(prophase II)* en est cependant plus courte, les chromatides étant déjà différenciées. Les *n* centromères de chacune des deux cellules se disposent sur le plan équatorial à la *métaphase*, puis se scindent en deux ; c'est à l'*anaphase* qu'a lieu la répartition des chromatides. Chaque chromatide se retrouve maintenant avec son propre centromère et prend le nom de chromosome. A la fin de cette seconde division *(télophase II)*, on se trouve donc en présence de 4 cellules contenant chacune *n* chromosomes. Suivant les organismes, ces cellules haploïdes donneront naissance à des gamètes, ou se développeront pour donner naissance à un organisme haploïde qui différenciera des gamètes (le *gamétophyte* chez les plantes).

Il est nécessaire de revenir sur certains aspects de la méiose pour en voir les conséquences au niveau du brassage génétique. Tout d'abord, considérons le devenir d'une seule paire de chromosomes homologues : 1 chromosome bleu et 1 chromosome rouge. Au cours de la méiose, nous avons observé que chacun de ces 2 chromosomes se duplique en 2 chromatides, qu'il s'apparie pour former un bivalent, et qu'ensuite chacune de ces 4 chromatides se retrouve dans une des 4 cellules issues d'une méiose. Considérons maintenant le chromosome de façon plus précise et, en particulier, son centromère, l'élément qui, par l'intermédiaire de fibres contractiles, permet aux chromosomes de se déplacer du plan équatorial vers un pôle de la cellule.

Dans un premier temps, le centromère bleu s'apparie au centromère rouge, puis s'en sépare et la première division les sépare complètement, de telle sorte que d'un côté se trouve un centromère bleu et de l'autre un centromère rouge.

A la seconde division, chacun de ces 2 centromères se divise et donne 2 centromères qui vont aller chacun dans une des 4 cellules produites par la méiose. On observe ainsi que 2 des 4 cellules filles auront un centromère bleu et que les 2 autres cellules auront un centromère rouge. On remarque d'autre part que la séparation entre le bleu et le rouge se fait dès la première division, c'est-à-dire que, dès la première division, d'un côté il n'y a que du bleu et de l'autre que du rouge.

Examinons maintenant ce qui se passe pour les bras des chromosomes. Dans un premier temps, considérons le cas où aucun chiasma n'a eu lieu sur un des bras du chromosome. Après la phase d'appariement, puis la première division, le centromère bleu sera donc associé à 2 chromatides bleues, et le centromère rouge à 2 chromatides rouges. A la deuxième division, quand les centromères se scindent en deux, il y aura donc, d'un côté, 2 cellules contenant chacune 1 chromatide entièrement rouge et, de l'autre côté, 2 cellules contenant chacune 1 chromatide entièrement bleue.

Supposons maintenant qu'au cours de la phase d'appariement un chiasma ait eu lieu sur ce bras chromosomique. Le chiasma, comme on l'a vu précédemment, est la conséquence d'un échange de morceaux de chromatides *(crossing-over)*. A la première division, nous avons donc : d'un côté, un centromère bleu associé à une chromatide bleue, et une chromatide « remaniée » dont la partie proche du centromère est bleue alors que son extrémité est rouge ; de l'autre côté, de façon symétrique, il y a un centromère rouge associé à une première chromatide entièrement rouge et à une deuxième chromatide dont l'extrémité est bleue.

A la deuxième division, on trouvera : d'un côté, 2 cellules contenant respectivement une chromatide entièrement bleue et une chromatide remaniée dont l'extrémité est rouge ; de l'autre côté, 2 cellules contenant respectivement une chromatide entièrement rouge et une chromatide remaniée dont l'extrémité est bleue.

L'effet du crossing-over que nous venons d'analyser n'est intéressant que dans la mesure où, si l'on fait le raisonnement inverse, il permet de savoir si, au cours d'une méiose donnée, un crossing-over a eu lieu ou non. Supposons, par exemple, que l'on possède sur le bras chromosomique étudié des « marqueurs » permettant de distinguer le chromosome bleu du chromosome rouge. (La nature de ces marqueurs sera étudiée plus en détail au cours du chapitre concernant la génétique.) Supposons que le chromosome bleu possède aux points A et B les marqueurs *a* et *b*, alors que le chromosome rouge possède en ces mêmes points A et B les marqueurs *a'* et *b'*. Si aucun crossing-over n'a lieu entre A et B, les chromosomes resteront soit bleus, soit rouges entre A et B, et les quatre produits de la méiose seront constitués respectivement de 2 cellules contenant chacune 1 chromosome portant *a* et *b* ainsi que de 2 cellules contenant chacune 1 chromosome portant *a'* et *b'*. Si un crossing-over a lieu entre A et B, 2 des 4 chromatides resteront inchangées et les 2 autres seront remaniées. Les 4 produits de la méiose contiendront respectivement des chromosomes ayant les structures suivantes : *ab*, *ab'*, *a'b* et *a'b'*.

Par le raisonnement inverse, si on connaît la structure des chromosomes bleus *(a, b)* et rouges *(a', b')* avant la méiose, l'analyse des produits de celle-ci permet de dire s'il y a eu ou non crossing-over entre *a* et *b*.

Observation : 100 produits haploïdes a'b et ab'
900 produits haploïdes ab et a'b'

Interprétation :

1° - structure des cellules diploïdes avant la méiose

2° - origine des produits haploïdes

métaphase I

200 méioses sans crossing-over entre A et B

50 méioses avec 1 crossing-over entre A et B

200 200 200 200 50 50 50 50

900 produits parentaux

100 produits recombinés

distance génétique A – B = 10 centimorgans (10 % de produits recombinés)

Richard Colin

▲ ***Mise en évidence d'une « liaison » entre deux marqueurs génétiques.***

Supposons, ainsi, que l'on analyse 1 000 produits de la méiose et que l'on trouve 900 produits *ab* ou *a'b'* et 100 produits *a'b* et *ab'*. De cette observation on peut déduire que, parmi les 250 méioses qui ont donné les 1 000 produits analysés, 50 ont fait l'objet d'un crossing-over entre A et B : ce sont elles qui sont à l'origine des 100 produits *a'b* et *ab'*. Les 100 produits *a'b* et *ab'* sont *recombinés* par rapport aux marqueurs A et B. Si, comme dans cet exemple, ils représentent 10 % des produits, on dit qu'il y a eu 10 % de *recombinants*.

Ce *pourcentage de recombinaison*, directement lié au pourcentage de crossing-over qui ont eu lieu entre les deux points, est une sorte de mesure de la distance génétique existant entre A et B. En effet, si A et B avaient été beaucoup plus proches l'un de l'autre (on dit aussi plus *liés* l'un à l'autre), la fréquence des crossing-over entre A et B aurait été plus faible, et la fréquence de recombinants que l'on aurait observée aurait été plus faible. Inversement, si, par exemple, on observe 20 % de recombinés entre C et D, on peut dire que la probabilité qu'un crossing-over ait lieu entre C et D est plus grande que celle qui pourrait se produire entre A et B, et donc que la *distance génétique* C-D est plus grande que la distance A-B. Par convention, la distance C-D est de 20 *unités* et celle de A-B est de 10 *unités*.

On peut ainsi établir la *carte des chromosomes* en localisant les uns par rapport aux autres les marqueurs que l'on possède. (Les différentes méthodes qui permettent l'établissement de telles cartes chez les différents organismes seront expliquées plus en détail dans le chapitre consacré à la génétique.)

Les crossing-over ont donc pour conséquence de fabriquer de nouveaux types de chromosomes : avant la méiose, nous avions une paire de chromosomes homologues, l'un rouge et l'autre bleu. Après la méiose, on se trouve en présence de chromosomes qui, par le jeu des crossing-over, sont sur leur longueur alternativement rouges et bleus.

A ce premier type de réorganisation intrachromosomique de l'information génétique se surajoute un deuxième type de réorganisation, qui est interchromosomique : c'est aussi une conséquence directe des mécanismes de la méiose.

Nous avons jusqu'ici envisagé les conséquences de la méiose sur une paire de chromosomes homologues. Envisageons maintenant deux paires de chromosomes ; la cellule diploïde envisagée comporte ainsi deux chromosomes bleus et leurs deux chromosomes homologues rouges. Faisons abstraction des remaniements dus aux crossing-over et considérons que, au cours de la méiose, les chromosomes restent soit entièrement bleus, soit entièrement rouges.

A la métaphase de la première division, les deux bivalents peuvent se disposer de deux façons, soit que les chromosomes rouges se placent d'un côté du plan équatorial et les chromosomes bleus de l'autre, soit que de chaque côté on trouve les chromosomes rouges d'un bivalent et les chromosomes bleus de l'autre bivalent. Dans le premier cas, 2 des 4 cellules auront 2 chromosomes rouges et les 2 autres auront 2 chromosomes bleus. Dans le deuxième cas, chacune des 4 cellules sera constituée de 2 chromosomes, l'un bleu et l'autre rouge.

Comme dans le cas de la recombinaison intrachromosomique, la distinction entre les deux possibilités de répartition des chromosomes peut se faire en utilisant des « marqueurs génétiques ». Par exemple, supposons que, d'une part, sur une des paires de chromosomes homologues, on connaisse au point A le marqueur *a* pour le chromosome bleu et le marqueur *a'* pour le chromosome rouge et que, d'autre part, sur l'autre paire de chromosomes, on connaisse au point C le marqueur *c* pour le chromosome bleu et le marqueur *c'* pour le chromosome rouge. Dans le cas de la première disposition décrite, d'un côté, on aura 2 cellules contenant chacune *a* et *c* et, de l'autre, on aura 2 cellules contenant chacune *a'* et *c'*. Dans le cas de la deuxième disposition, d'un côté, on aura 2 cellules contenant chacune *a* et *c'* et, de l'autre, 2 cellules contenant chacune *a'* et *c*.

Étant donné que ces deux dispositions sont également probables, si l'on considère un grand nombre de méioses, dans la moitié d'entre elles nous aurons la première disposition et dans l'autre moitié nous aurons la deuxième disposition. Inversement, si l'on observe 1 000 produits de la méiose et que dans 500 de ces produits on constate les associations *ac'* ou *a'c,* alors que dans les 500 autres se présentent les associations *a'c'* et *ac,* on peut en conclure que les sites A et C où sont localisés les marqueurs génétiques sont situés sur des chromosomes différents. On dit que les marqueurs ségrègent indépendamment l'un de l'autre. Dans le cas précédent, les marqueurs A et B étaient situés sur le même chromosome, et on observait beaucoup plus de produits correspondant à l'association de départ que de produits recombinés. Dans le cas où les marqueurs sont localisés sur des chromosomes différents, on observe autant d'associations recombinées que d'associations d'origine *(associations parentales)*.

Ce que nous venons de voir avec deux chromosomes peut s'étendre à tous les chromosomes les uns par rapport aux autres. Dans le cas de deux chromosomes, il n'y avait que 2 possibilités, donnant 4 types de produits haploïdes *(ac, a'c', a'c, ac')*. Dans le cas de $n = 3$ chromosomes, il y aura 4 possibilités qui donneront 8 types de produits haploïdes. Et ainsi, pour n chromosomes, il y aura 2^n types de produits haploïdes. Dans le cas de l'espèce humaine, en supposant que l'on possède sur chaque chromosome un marqueur génétique, il y a plus de huit millions de types de produits haploïdes différents les uns des autres. Cette estimation est cependant très en dessous de la réalité, car, d'une part, nos chromosomes homologues diffèrent les uns des autres par beaucoup plus d'un point, et, d'autre part, nous n'avons pas tenu compte de toutes les possibilités de remaniements effectués par les crossing-over.

Description de quelques cycles

Nous venons d'analyser les deux étapes clés d'un cycle sexuel : la *méiose* et la *fécondation*. De plus, nous avons vu l'importance qu'avaient ces deux mécanismes pour permettre un brassage des chromosomes et de l'information génétique, ces deux mécanismes pouvant intervenir à des moments différents.

Avant d'aborder la description détaillée d'un certain nombre de cycles haplobiontiques, haplodiplobiontiques et diplobiontiques, examinons comment un caractère génétique donné passe d'une génération à l'autre. Dans le cadre d'un *cycle diplobiontique*, prenons par exemple : les caractères roux et bruns dans l'espèce humaine. On a pu montrer que, si un individu est roux, c'est parce qu'il porte en un endroit précis, que nous appellerons A, d'un chromosome précis, que nous appellerons ch I, une mutation qui a pour conséquence d'empêcher la fabrication du pigment permettant la coloration brune des cheveux. Nos cellules, qui sont diploïdes, contiennent chacune 2 lots de chromosomes et donc 2 ch I. Le point A existe donc lui aussi en 2 exemplaires, 1 sur chaque chromosome ch I. Pour qu'un individu soit roux, il faut qu'en ces deux points la mutation soit présente : on schématise cet état de fait en écrivant que l'individu est A^-/A^- (le signe $^-$ signifie que le point A est occupé par la mutation).

Considérons maintenant un individu brun appartenant à une famille où tous les individus sont bruns. De même que précédemment, ses cellules diploïdes posséderont le point A en deux exemplaires mais, à l'inverse des individus roux, en ce point A il ne portera pas la mutation et, pour indiquer la différence avec l'individu roux, on schématisera le contenu des points A par A^+/A^+ (le signe $^+$ signifie que le point A n'est pas occupé par la mutation).

Considérons maintenant les gamètes produits par ces deux individus. Leurs gamètes haploïdes contiennent un seul lot de chromosomes et donc un seul chromosome ch I. Tous les gamètes de l'individu A^+/A^+ seront donc A^+ et les gamètes de l'individu A^-/A^- seront A^-.

Supposons maintenant que ces deux individus soient de sexe différent et qu'ils aient des enfants. Tous leurs enfants seront issus de la fécondation d'un gamète A^+ et d'un gamète A^- et seront donc A^+/A^-. Seront-ils roux ou bruns ? Dans le cas précis de cette mutation, ils seront bruns parce qu'il suffit d'un seul A^+ par cellule pour que ces cellules soient capables de fabriquer le pigment ; ils possèdent néanmoins la mutation A^-, même si on ne la voit pas. L'état diploïde permet ainsi de « cacher » l'effet de certaines mutations. Ces enfants A^+/A^- produiront eux-mêmes des gamètes qui pour moitié seront A^+ et pour moitié seront A^-.

Si nous étions dans le cadre d'un *cycle haplodiplobiontique* et que les produits haploïdes donnés par les individus A^+/A^- eussent des cheveux, la moitié des produits aurait les cheveux roux et l'autre moitié des cheveux bruns, car dans ces produits haploïdes la mutation A^- est seule et ne peut donc pas se « cacher » derrière un éventuel A^+. La possibilité de « cacher » certaines mutations, qui existe dans la phase diploïde, n'existe pas dans la phase haploïde. Un individu diploïde peut ainsi transporter des mutations très néfastes qui restent « cachées », à cause de la présence dans les cellules diploïdes d'un deuxième chromosome ne portant pas la mutation. L'effet de la mutation n'apparaîtra que si un nouvel individu A^-/A^- est fabriqué à l'issue de la fécondation de deux gamètes portant chacun A^-. Ainsi, la consanguinité augmente la probabilité pour que *la même mutation néfaste* soit présente dans les deux gamètes qui participent à la fécondation.

Cycles diplobiontiques

Ce type de cycle caractérise essentiellement l'ensemble des Métazoaires, des Spongiaires aux Mammifères, en passant par les Insectes, les Poissons, les Reptiles et les Oiseaux. On l'observe aussi chez quelques animaux unicellulaires parmi les plus évolués, comme les paramécies. Chez les végétaux, le nombre d'espèces à cycle strictement diplobiontique est réduit, mais, chez les végétaux supérieurs, la durée de la phase haploïde est si réduite que nous décrirons ces derniers comme ayant un cycle diplobiontique et non pas haplodiplobiontique.

Observation : 500 produits haploïdes a'c et ac'
500 produits haploïdes ac et a'c'

Interprétation :
1° - structure des cellules diploïdes avant la méiose

2° - origine des produits haploïdes
deux dispositions sont possibles au cours de la métaphase I

125 méioses | 125 méioses

125 125 125 125 | 125 125 125 125

500 produits parentaux | 500 produits recombinés

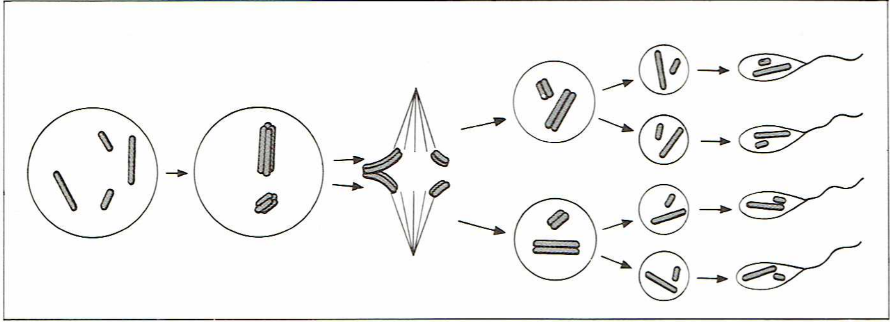
Richard Colin

▲ ***Mise en évidence d'une « indépendance » entre deux marqueurs génétiques ; dans le cas de l'espèce humaine, en supposant que l'on possède un marqueur génétique sur chaque chromosome, il y a plus de huit millions de types de produits haploïdes différents les uns des autres.***

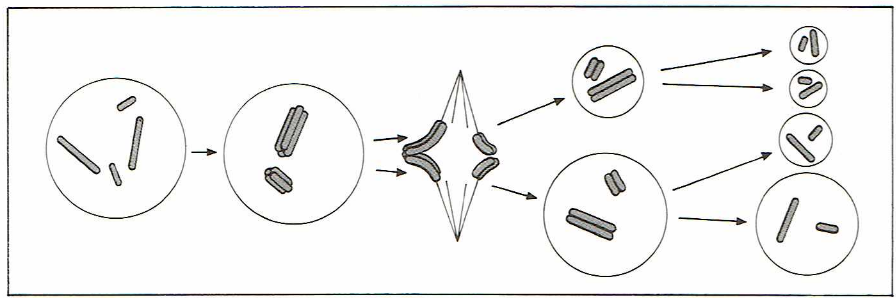
Cycle, gamétogenèse et fécondation chez les animaux supérieurs

Examinons, par exemple, le cas de l'espèce humaine. La vie en tant qu'organisme diploïde commence à la fécondation, lorsque les deux gamètes, l'ovule et le spermatozoïde s'unissent pour former l'œuf. Cet œuf, diploïde, subit un très grand nombre de mitoses, et ainsi se forme un embryon dont les différentes cellules, au cours du développement embryonnaire, se différencient en telle ou telle cellule « spécialisée ». Cet embryon grandira et deviendra soit un homme, soit une femme. L'individu est ainsi constitué de milliards de cellules, quasiment toutes diploïdes, comme le zygote dont elles proviennent. Seules quelques-unes, localisées dans les organes génitaux, sont redevenues haploïdes après avoir subi la méiose : ce sont les cellules sexuelles : spermatozoïdes ou ovules. Ces gamètes, du moins quelques très rares d'entre eux, participeront à la constitution de nouveaux zygotes, et le cycle reprendra. Nous allons examiner plus en détail les mécanismes de formation des gamètes *(gamétogenèse)* chez les mâles *(spermatogenèse)* et chez les femelles *(ovogenèse)*.

Les *gamètes mâles,* ou *spermatozoïdes,* sont formés dans les gonades mâles, ou *testicules*. Les cellules (diploïdes) de la lignée germinale, qui vont donner naissance aux spermatozoïdes, ont été appelées *spermatogonies*. Ce sont des cellules arrondies d'aspect assez banal. Dans une première phase, les spermatogonies se divisent activement par mitose et donnent naissance à des cellules nommées *spermatocytes de premier ordre,*



I.G.D.A.



I.G.D.A.

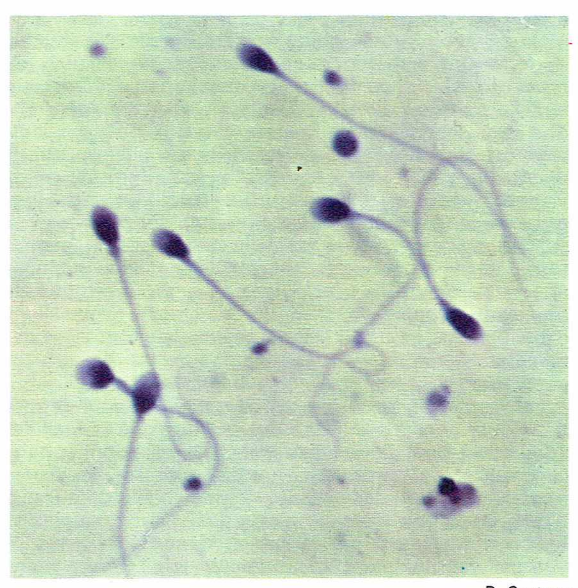
▲ *Mode de* formation *des* gamètes *mâles, ou* spermatozoïdes *(en haut), et des* gamètes *femelles, ou* ovules *(en bas); à la fin de la méiose, dans le premier cas, chaque spermatocyte (diploïde) va donner 4 spermatozoïdes (haploïdes); dans le deuxième cas, chaque ovocyte (diploïde) va donner 4 cellules haploïdes : l'ovule fonctionnel et 3 globules polaires.*

qui vont subir une légère augmentation de taille avant de subir la méiose. Chaque spermatocyte, en subissant la méiose, donne d'abord naissance à 2 cellules, appelées *spermatocytes de deuxième ordre*, puis à 4 cellules haploïdes : les *spermatides*. Ces spermatides ne vont plus subir de division, mais un remodelage complexe va les transformer en gamètes mâles fonctionnels, ou spermatozoïdes.

Dans le spermatozoïde, on distingue trois parties : la *tête*, qui comprend le noyau coiffé par l'*acrosome* (dont nous verrons le rôle au cours de la fécondation), la *pièce intermédiaire*, qui renferme un manchon de mitochondries dont le principal rôle est de fournir l'énergie nécessaire aux battements du *flagelle*, lequel constitue la troisième partie. On voit donc que, par sa structure même, le spermatozoïde apparaît comme une cellule parfaitement adaptée à son rôle majeur de transporteur des chromosomes paternels.

Les *gamètes femelles*, ou *ovules*, sont formés dans les gonades femelles, ou *ovaires*. Si les mécanismes cytologiques de formation des ovules (ovogenèse) sont très différents de ceux qui régissent la formation des spermatozoïdes, le but en est cependant le même : produire des gamètes haploïdes. De plus, l'ovogenèse doit assurer la production d'une cellule assez grosse, contenant donc assez de réserves pour assurer les premières étapes de l'embryogenèse.

▶ *Page ci-contre, en bas à gauche,* *schéma de la* gamétogenèse *et de la* fécondation *chez une Angiosperme : A-F, phases de formation du sac embryonnaire; np, noyaux polaires; oo, oosphère; sy, synergides; nm, noyaux mâles apportés par le tube pollinique : un des deux noyaux féconde l'oosphère tandis que l'autre féconde le noyau central (nc) obtenu par fusion des deux noyaux polaires; ca, cellules antipodes. En D, E, F, on note le contact du tube pollinique. G, H, I et L, grain de pollen, sa germination et la formation du tube pollinique (tp), et origine des noyaux mâles (nm). M, section d'un pistil : st, stigmates; cs, canal stylaire; tp, tube pollinique; nu, nucelle; mi, micropyle.*



P. Castano

▶ *Quelques* spermatozoïdes *humains (× 750 × 1,3).*

L'ovogenèse commence par une phase de multiplication des *ovogonies*, qui se transforment en *ovocytes de premier ordre* (ovocyte I). Ces ovocytes vont connaître une phase d'accroissement, laquelle sera beaucoup plus importante que celle observée chez les spermatocytes. Ces ovocytes subissent ensuite la méiose. A la différence du spermatocyte, qui, à chacune des deux divisions de la méiose, donne naissance à deux cellules de taille identique, l'ovocyte, au cours de la première division de la méiose, donne naissance à deux cellules très inégales : l'une a pratiquement conservé tout le cytoplasme de l'ovocyte, alors que l'autre n'en n'a récupéré qu'une infime partie (cette petite cellule est appelée *globule polaire*). A la deuxième division de la méiose, le même phénomène se reproduit, tandis que le premier globule polaire émis se divise à son tour.

Chaque ovocyte, à la fin de sa méiose, a donc donné naissance à 4 cellules haploïdes, dont l'une est l'*ovule*, les 3 autres étant les *globules polaires*. Ces globules polaires, sauf dans quelques situations très particulières, ne joueront plus aucun rôle. Chez la plupart des espèces, ce n'est pas l'ovule ayant fini sa méiose qui est pondu, mais un stade plus précoce, tel que l'ovocyte I ou l'ovocyte II. C'est la fécondation qui entraînera la fin du processus de maturation de l'ovule.

Que la *fécondation* ait lieu à l'intérieur de la femelle, après accouplement des conjoints, ou dans l'eau, ses modalités restent les mêmes. La rencontre du spermatozoïde et de l'ovule n'est pas le résultat du hasard : les *gamones*, substances chimiques sécrétées par les deux gamètes, orientent la rencontre. Généralement, la tête du spermatozoïde entre en contact avec un point quelconque de la surface de l'ovule. La membrane de l'acrosome se rompt et libère des enzymes qui provoquent l'hydrolyse des membranes de l'ovule, permettant ainsi à la tête du spermatozoïde de pénétrer plus avant. A ce contact, l'ovule réagit de telle sorte qu'aucun autre spermatozoïde ne pourra plus rentrer; d'autre part, il termine sa méiose si celle-ci n'est pas finie. Le noyau du spermatozoïde se fusionne ensuite au noyau de l'ovule : c'est la *caryogamie*.

Le rôle du spermatozoïde est donc double; d'une part, apporter un lot de chromosomes et, d'autre part, « réveiller » l'ovule, qui peut être en dormance depuis de longues années. Les deux rôles ayant été bien dissociés, on a pu lever la dormance sans qu'il y ait fécondation et ainsi réaliser expérimentalement la parthénogenèse; des Amphibiens haploïdes ont été obtenus qui se sont développés uniquement à partir du noyau de l'ovule.

Cycle, gamétogenèse et fécondation chez une plante Angiosperme

Examinons, par exemple, le cas du maïs. Cette plante comprend une tige, des racines et des feuilles, dont l'ensemble correspond à la phase diploïde de son cycle. Les gamètes mâles et femelles sont produits respectivement par les étamines de la fleur mâle et par les ovaires de la fleur femelle.

Dans les étamines, se différencient des cellules qui vont donner naissance aux *grains de pollen*. Ces cellules sont les homologues des spermatocytes de premier ordre des animaux et représentent donc la dernière étape de la phase diploïde. Elles entrent en méiose et donnent naissance à 4 cellules haploïdes, qui vont chacune évoluer en un grain de pollen. Au cours de cette évolution, le noyau haploïde subit ensuite une mitose. D'autre part, le grain de pollen différencie une épaisse couche de cuticule qui lui permettra de résister à la sécheresse.

Quand le grain de pollen germe, il émet un long tube dans lequel s'engagent les deux noyaux haploïdes. Un de ces deux noyaux est appelé *noyau végétatif* et l'autre *noyau reproducteur*. Le noyau reproducteur subit une mitose supplémentaire, et ce sont les deux noyaux issus de cette division qui participeront aux fécondations qui ont lieu dans l'ovule. On peut donc considérer, par analogie avec ce que l'on a vu chez les organismes précédents, que seuls ces noyaux reproducteurs ont valeur de gamètes mâles. Le grain de pollen constitue donc l'une des parties haploïdes du cycle des plantes et, par analogie avec ce que nous verrons chez les Mousses ou les Fougères, constitue le *gamétophyte mâle*.

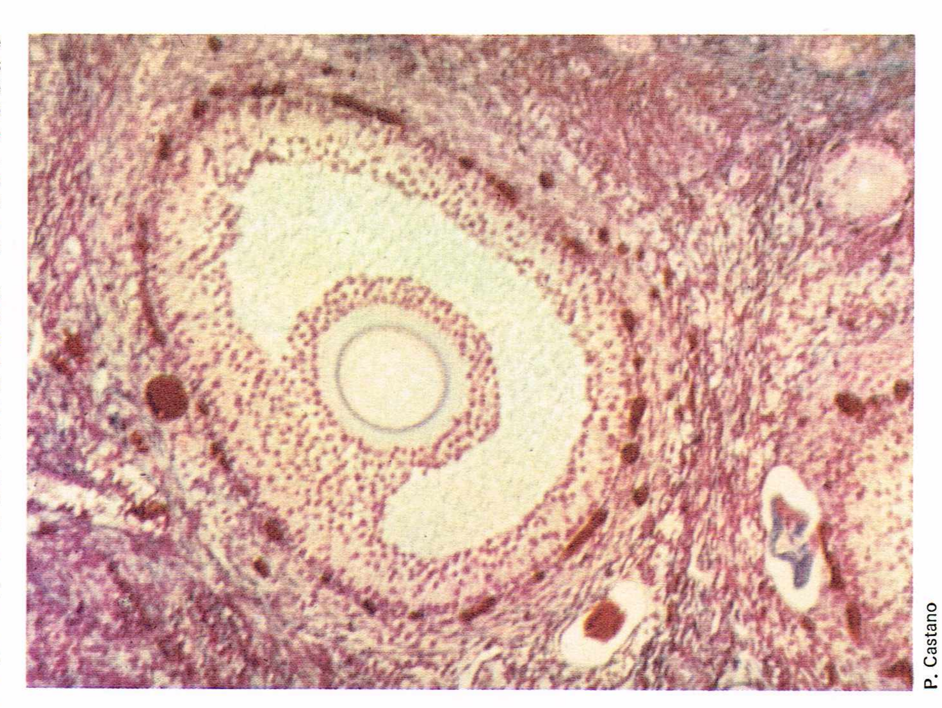
Dans l'ovaire, il existe aussi une phase haploïde réduite. A l'intérieur de chaque ovule, une seule cellule subit la

méiose. Il faut noter que le terme d'ovule n'a pas le même sens chez les botanistes et chez les zoologistes. Nous avons vu que chez les animaux ce terme est employé pour désigner la cellule ayant subi la méiose et qui va être fécondée ; chez les plantes, l'ovule désigne un organe complexe comprenant le nucelle et le sac embryonnaire. Des 4 produits de cette méiose, seule 1 cellule produira des noyaux ayant valeur de gamètes femelles. Cette situation est à rapprocher de celle que nous avons observée chez les Métazoaires, où chaque méiose femelle ne produit qu'un gamète femelle fonctionnel.

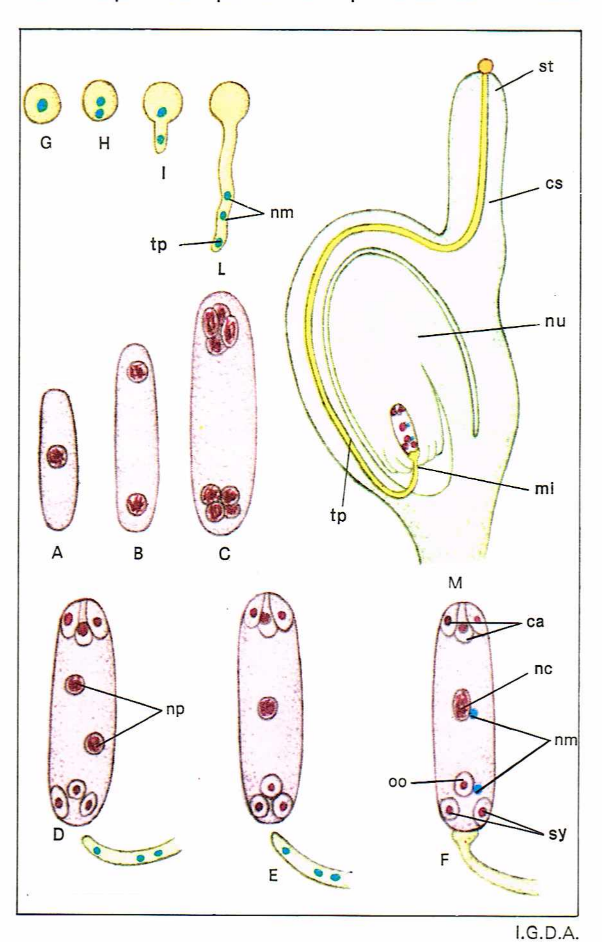
Après la méiose, le noyau haploïde de cette cellule subit 3 mitoses successives, donnant ainsi 8 noyaux haploïdes qui se répartissent dans le cytoplasme et que vont isoler les membranes cytoplasmiques. Cet ensemble est appelé *sac embryonnaire*. D'un côté se groupent 3 cellules, les *antipodes ;* 3 autres se groupent près du micropyle ; les 2 noyaux restants occupent la région centrale du sac. Le gamète femelle, appelé oosphère, est représenté par une des trois cellules localisées près du micropyle. Le sac embryonnaire constitue ainsi l'autre partie haploïde du cycle des plantes supérieures : c'est le *gamétophyte femelle*.

Nous avons vu que, lors de sa germination, le grain de pollen émet un long tube au bout duquel se trouvent deux noyaux haploïdes issus de la division du noyau reproducteur. Ce tube s'insinue entre les cellules du pistil, se dirige vers le sac embryonnaire et entre en contact avec lui. Les deux noyaux du tube pénètrent alors dans le sac et participent à deux fécondations. L'une s'effectue avec l'oosphère et donne un noyau diploïde qui, en se divisant, donnera naissance à un embryon, puis à une plante. L'autre a lieu entre un des noyaux amenés par le tube pollinique et les deux noyaux du centre du sac embryonnaire ; le noyau formé au cours de cette seconde fécondation est donc *triploïde ;* il donnera naissance à une sorte d'embryon abortif qui sera utilisé comme tissu de réserve de la graine et permettra le début du développement de l'embryon diploïde.

Le maïs, dont nous venons de voir certains aspects du cycle, est une plante hermaphrodite mais à fleurs mâles et femelles séparées. Chez beaucoup de plantes à fleurs, c'est chaque fleur qui est hermaphrodite. Comme nous

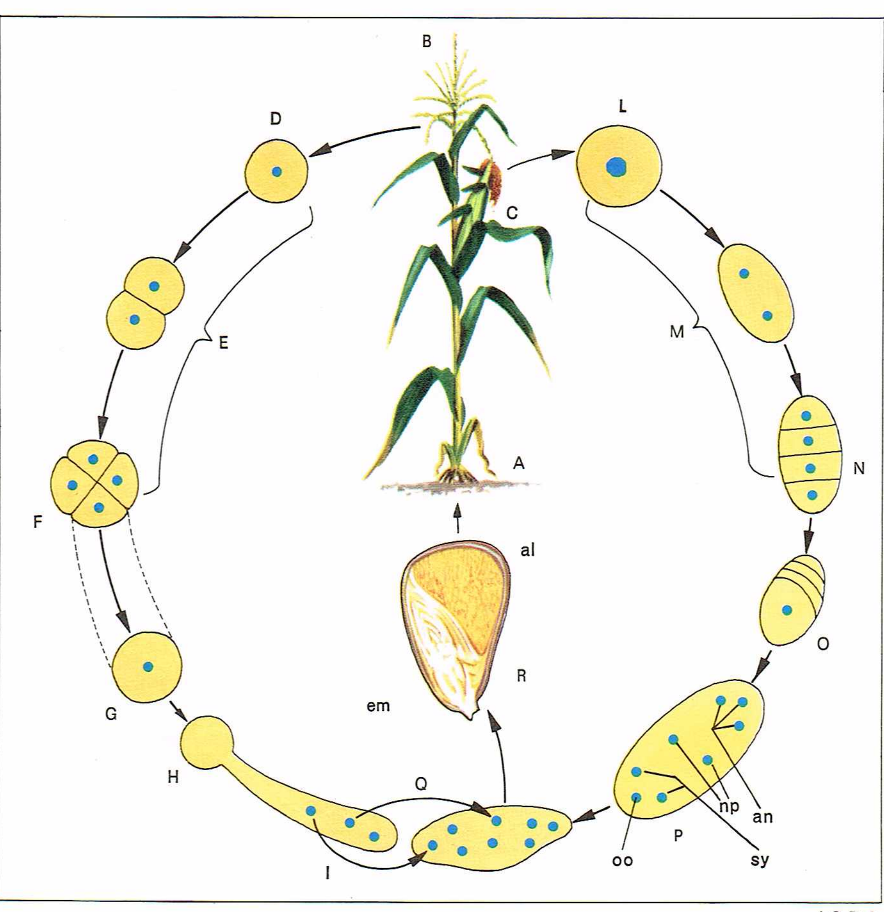


▲ *Coupe d'un* **follicule ovarien** *(× 150 × 3).*



I.G.D.A.

▼ *Cycle vital d'une Graminée, le maïs* (Zea mays) : *A, plante (sporophyte) adulte ; B, panicule (inflorescence mâle) ; C, épi (inflorescence femelle) ; D, microsporocyte (2 n chromosomes). E, méiose ; F, chaque cellule issue de la méiose (n chromosomes). G, grain de pollen (microspore) ; H, germination du grain de pollen ; I, noyaux reproducteurs du tube pollinique ; L, mégasporocyte (2 n chromosomes) ; M, méiose ; N, mégaspores ; O, une seule mégaspore survit. P, sac embryonnaire mature avec noyau de l'oosphère (oo), noyaux des synergides (sy), noyaux polaires (np) et noyaux des antipodes (an) ; Q, fécondation ; R, graine mure avec l'embryon (em) diploïde et l'albumen (al) triploïde : la graine germe et donne naissance à une nouvelle plante.*



I.G.D.A.

▶ *Phénomène de* **conjugaison** *chez un* **Infusoire** *: quand les* **conditions extérieures** *changent, les cellules peuvent devenir* **sexuellement** *réactives et aptes à ce type de phénomène qui commence quand deux organismes de signes sexuels opposés se rencontrent.*



J.B. Crumeyrolle - Pitch



C. Nardin - Jacana

▲ *Le cycle* **haplodiplobiontique** *caractérise surtout les plantes; ici des* **polytrics communs** (**Polytrychum commune**) [*Mousses*].

le verrons plus tard, l'autofécondation n'est cependant pas la règle; suivant les espèces, la pollinisation s'effectue soit grâce au vent *(pollinisation anémophile)*, soit grâce aux Insectes *(pollinisation entomophile)*. Chez certains végétaux, la pollinisation par les Insectes peut être si spécialisée qu'elle ne s'effectue que par l'intermédiaire d'une espèce bien précise d'Insectes.

Le cycle d'un Protozoaire Cilié: la paramécie

Prenons pour exemple *Paramecium aurelia*. Dans chaque cellule de paramécie, il existe deux types de noyaux. Le plus gros, appelé *macronucléus*, est celui qui préside à la vie physiologique de la cellule. Par analogie avec les Métazoaires, ce macronucléus peut être considéré comme étant à lui seul la *lignée somatique*. Il est très hautement polyploïde (800 *n*). Les autres noyaux, beaucoup plus petits, appelés *micronucléus*, sont au nombre de 2 et sont diploïdes. Ils ne jouent probablement qu'un rôle très réduit dans le fonctionnement de la cellule. Par contre, ils sont les seuls à remplir une fonction dans les phénomènes de sexualité : la *conjugaison* et l'*autogamie*. Ces micronucléus peuvent être considérés comme étant la *lignée germinale* de la paramécie.

Quand les conditions sont favorables, la paramécie se multiplie par simple bipartition, les micronucléus subissant des mitoses normales et le macronucléus une division dont les modalités ne sont pas bien connues. S'il semble que celle-ci soit moins précise que celle qui a lieu au cours de la mitose classique, chaque cellule fille est néanmoins constituée à l'issue d'une division de deux micronucléus et d'un macronucléus. Cette période de multiplication constitue la phase diploïde du cycle.

Lorsque les conditions extérieures changent, en particulier lorsque la nourriture commence à manquer, les cellules deviennent sexuellement réactives et aptes à la *conjugaison*. La conjugaison commence quand deux paramécies de signes sexuels opposés se rencontrent. Elles s'accolent très fortement l'une à l'autre et forment ainsi un couple. A l'intérieur de chacune des deux cellules du couple, les noyaux sont alors l'objet de profondes modifications, qui sont identiques dans les deux cellules. Le macronucléus se morcelle et commence à dégénérer. Les micronucléus subissent la méiose, à la suite de quoi chaque cellule contient 8 noyaux haploïdes provenant des deux micronucléus diploïdes. 7 de ces 8 noyaux dégénèrent, et le noyau restant subit alors une mitose. Un des deux noyaux issus de cette mitose va alors migrer dans la cellule partenaire. A l'issue de cet échange réciproque de noyaux, chacune des deux cellules accolées contient 2 noyaux haploïdes : l'un provient de la méiose des micronucléus qu'elle possédait avant la conjugaison, et l'autre provient de la méiose des micronucléus de son partenaire.

La fécondation a lieu à ce moment par fusion de ces deux noyaux, qui forment ainsi un nouveau noyau diploïde. On peut considérer que le noyau qui est resté en place constitue le gamète femelle, alors que le noyau migrateur qui vient du partenaire constitue le gamète mâle. La phase haploïde du cycle de la paramécie est ainsi très réduite; elle se cantonne à la division postméiotique, laquelle donne naissance aux noyaux qui vont ensuite participer à la fécondation. Les deux cellules ayant participé à la conjugaison se séparent alors.

Nous avons donc vu comment le noyau diploïde subissait la méiose et comment s'effectue la fabrication du nouveau noyau diploïde. Il faut, en outre, étudier le déroulement de la fin de la conjugaison pour observer comment se forme le nouveau macronucléus. A la suite de la fusion des deux cellules haploïdes, le noyau diploïde subit 2 mitoses, qui donnent 4 noyaux. Deux de ces noyaux resteront diploïdes et seront les micronucléus, alors que les deux autres vont se polyploïdiser et devenir des macronucléus. Les deux cellules ayant participé à cette conju-

◀ ***Représentation schématique de la* conjugaison *chez* Paramecium aurelia :** ***nm, noyau migrateur (équivalent du gamète mâle); ns, noyau stationnaire (équivalent du gamète femelle); mi, micronucléus; ma, macronucléus; sy, syncaryon.***

Richard Colin

gaison contiennent donc chacune 2 micronucléus et 2 macronucléus en formation. Chacune de ces deux cellules se divise de sorte que seuls les micronucléus subissent une mitose, et les deux macronucléus se répartiront dans les cellules filles. A la suite de cette division postconjugale, il y a donc 4 cellules, contenant chacune 2 micronucléus et 1 macronucléus. Les divisions suivantes de chacune de ces 4 cellules se feront, comme on l'a vu au début du cycle, avec mitose des micronucléus et division du macronucléus.

Un autre type d'événement nucléaire a lieu quand une cellule ne trouve pas de partenaire ayant un signe sexuel opposé au sien : c'est l'*autogamie*. Les événements nucléaires qui se déroulent au cours de l'autogamie sont très semblables à ceux qui ont lieu lors de la conjugaison. La seule différence est que les deux noyaux haploïdes qui fusionnent pour donner naissance au nouveau noyau diploïde ne sont pas, comme dans la conjugaison, deux noyaux haploïdes différents provenant de chacun des deux partenaires, mais sont les deux noyaux haploïdes issus de la mitose du seul noyau rescapé après la méiose. Ces deux noyaux sont donc absolument identiques en tout point, et le noyau diploïde qui est ainsi constitué est *homozygote pour tous ses gènes :* les deux lots de chromosomes contiennent chacun exactement la même information.

Cycles haplodiplobiontiques

Chez les organismes à cycle haplodiplobiontique, la multiplication cellulaire s'effectue, d'une part, au cours de la phase haploïde et, d'autre part, au cours de la phase diploïde : il y a *alternance des générations*. Ce type de cycle existe surtout chez les plantes. L'importance relative des deux cycles varie d'un groupe à l'autre : ainsi, chez les Mousses, la phase prépondérante est la phase



I.G.D.A.

▲ **Alternance de générations** ***chez une*** **Fougère** ***(Ptéridophyte); la fronde (A) constitue la partie diploïde (sporophyte) du cycle de la Fougère. Dans les sporanges (B) a lieu la réduction chromatique; les spores haploïdes (C) libérées par le sporange germent (D) et donnent naissance à des prothalles (E) [gamétophytes] où se différencient les organes reproducteurs mâles ou anthéridies (F) et femelles ou archégones (G). Les gamètes mâles ou anthérozoïdes (I), libérés, entrent dans l'archégone où a lieu la fécondation du gamète femelle ou oosphère (L). De la cellule diploïde issue de la fécondation se développe un embryon qui donnera naissance à un nouveau plant de Fougère (M) qui se développe (N) et donne naissance à de nouvelles frondes sporifères (A).***

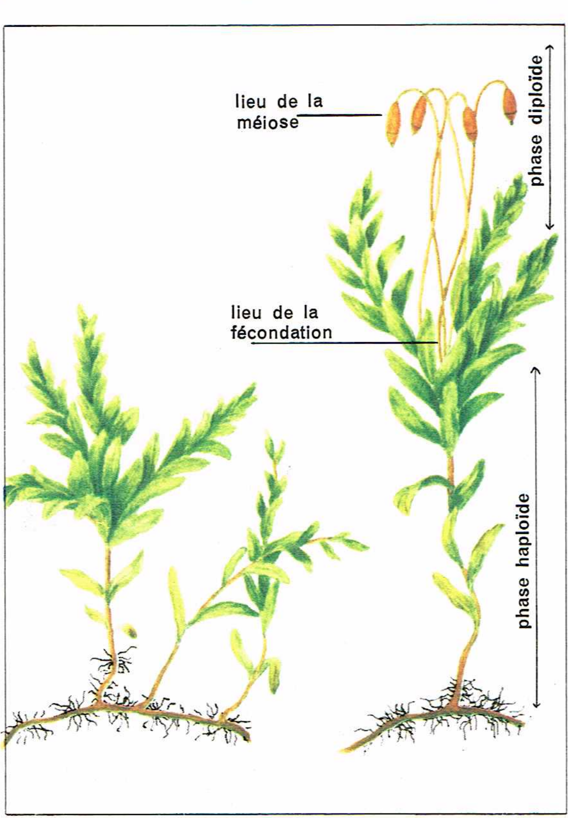
haploïde, alors que chez les Fougères, c'est la phase diploïde. Les plantes supérieures ont une phase haploïde si réduite que nous les avons considérées comme des organismes à cycle diplobiontique.

Le cycle d'une Mousse

La tige feuillue d'une Mousse constitue la phase haploïde. C'est sur ces tiges que se différencient les gamètes mâles et les gamètes femelles. Les gamètes mâles, ou *anthérozoïdes*, sont produits par les *anthéridies*. Ce sont des cellules flagellées qui peuvent se déplacer dans l'eau. L'organe reproducteur femelle, ou *archégone*, ne contient qu'un seul gamète femelle : l'*oosphère*. L'oosphère, non mobile, est située dans la partie renflée de l'archégone. Celui-ci possède, d'autre part, un long col rempli d'une gelée qui laisse diffuser dans l'eau une substance attirant, par son action chimiotactique, les gamètes mâles.

La fécondation de l'oosphère par un gamète mâle donne naissance à un organisme diploïde qui restera fixé sur la partie feuillue haploïde. Cette phase diploïde se compose d'un hampe filiforme à l'extrémité de laquelle se développe une capsule, appelée *sporange*. C'est dans cette capsule qu'a lieu la réduction chromatique : certaines cellules effectuent leur méiose et donnent naissance à des cellules haploïdes appelées *spores*, par l'intermédiaire desquelles se réalise la dissémination de l'espèce; les spores sont, en effet, protégées de la sécheresse par une membrane très résistante. En présence d'eau, elles germent et donnent naissance à de fins filaments appelés *protonéma*, sur lesquels se forment des pousses feuillées.

Le cycle des Mousses fait donc alterner une phase haploïde prédominante et une phase diploïde qui vit en parasite sur la partie haploïde. La partie haploïde, sur laquelle se différencient les gamètes, est appelée aussi *gamétophyte*. La partie diploïde qui, après réduction chromatique, donne naissance aux spores est appelée aussi *sporophyte*.



I.G.D.A.

Le cycle d'une Fougère

Ce que l'on appelle couramment une Fougère correspond à la phase diploïde du cycle qui, par analogie au cycle des Mousses, correspond au sporophyte. A l'inverse de celui des Mousses, le sporophyte des Fougères est de grande taille, et sa vie est totalement indépendante de celle du gamétophyte. La réduction chromatique a lieu dans les *sporanges*, lesquels sont répartis en petits groupes à la face inférieure des frondes. Les produits haploïdes, ou *spores*, en germant, donnent naissance à de minuscules lames vertes, appelées *prothalles*. Sur un prothalle se différencient alors les organes sexuels mâles et femelles qui produisent des gamètes mâles et femelles. De même que chez les Mousses, la fécondation a lieu dans l'*archégone*. L'organisme diploïde issu de la fécondation ne vit que peu de temps aux dépens du prothalle. Très vite, la petite Fougère continue indépendamment son développement alors que le prothalle périt.

Cycles haplobiontiques

Une espèce est à cycle haplobiontique quand sa multiplication ou sa croissance se font à l'état haploïde et que, dans l'ensemble du cycle de développement, seul le *zygote* correspond à la phase diploïde. La méiose suit alors immédiatement la fécondation. Ce type de cycle est la règle chez les Sporozoaires (coccidies, grégarines), chez certains Protozoaires, chez les Champignons inférieurs et chez les Bactéries. Il se rencontre aussi chez diverses Algues vertes, soit unicellulaires comme *Chlamydomonas,* soit pluricellulaires comme *Spirogyra*.

Le cycle d'une Algue verte : Chlamydomonas

Chlamydomonas est une Algue verte unicellulaire qui possède un énorme chloroplaste en forme de fer à cheval, et dont le noyau est haploïde. La multiplication végétative s'opère soit par simple bipartition, soit par un processus différent qui donne naissance à plusieurs cellules à l'intérieur de la membrane de la cellule même. Sous l'influence des conditions externes, certaines cellules morphologiquement normales jouent le rôle de gamètes et s'unissent pour former une cellule diploïde, le *zygote*.

Bien que les gamètes soient apparemment identiques, ils diffèrent par leur *type conjugal*. Les uns sont de type conjugal + et les autres de type conjugal — ; la fécondation se fait entre une cellule + et une cellule — . Le caractère + ou — est comme le caractère A, défini dans le paragraphe précédent, c'est-à-dire qu'une cellule haploïde ne peut être que + ou — . Le zygote diploïde formé à l'issu de l'union d'un + et d'un — est donc +/—. Ce zygote s'entoure d'une membrane de protection et entre dans une phase de repos végétatif et de résistance aux agents extérieurs. C'est sous cette forme qu'a lieu



C. Bevilacqua

◀ *Fronde d'une Fougère* (Athyrium distantifolium) [*sporophyte*]. *A noter la* différence de taille *entre le* sporophyte *et le* gamétophyte *chez la Fougère. Chez les Mousses (Bryophytes), plantes plus primitives, c'est le gamétophyte qui constitue la partie la plus importante du cycle.*

la dissémination de l'espèce. Le zygote ne se multiplie jamais à l'état diploïde mais subit directement la méiose et donne naissance à 4 cellules haploïdes, qui recommencent le cycle.

Le cycle d'un Champignon Basidiomycète

Le « chapeau » d'un Champignon Basidiomycète comme le coprin est formé d'un ensemble très dense de filaments mycéliens enchevêtrés. Ces filaments sont constitués d'articles dont chacun renferme 2 noyaux haploïdes. La division de ces noyaux est synchrone, de sorte que chaque nouvel article contiendra toujours un fils de chaque noyau. Ce type de mycélium est appelé *mycélium secondaire*, ou *dicaryon*. Sous le chapeau, sur les lamelles, sont produites des cellules particulières, appelées *basides,* à l'intérieur desquelles s'effectue la fusion des deux noyaux.

Le noyau obtenu, diploïde, subit immédiatement la méiose et donne naissance à 4 spores haploïdes. De la germination de chacune de ces spores haploïdes naissent des mycéliums, appelés *mycéliums primaires,* qui, seuls, ne peuvent pas donner naissance à des chapeaux, car il faut que se constitue un *dicaryon*. Lorsque deux mycéliums primaires compatibles entrent en contact, une fusion cytoplasmique s'opère : un article contenant un noyau de chacun des deux mycéliums sera à l'origine du mycélium dicaryotique qui donnera naissance au chapeau où s'effectuera, dans les basides, la fusion de deux noyaux.

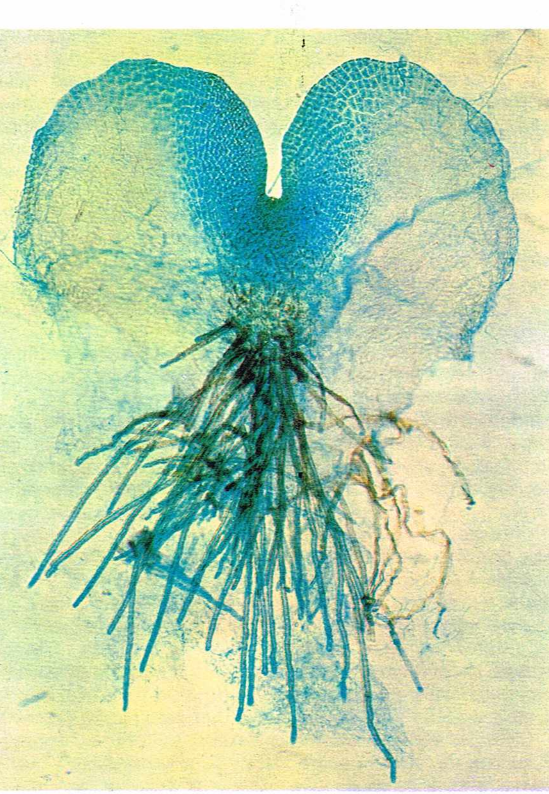
Il est important de remarquer que le dicaryon se comporte physiologiquement comme une cellule diploïde : on peut y observer des phénomènes de dominance et de « masquage ». Les mycéliums dicaryotiques sont, en fait, l'équivalent d'une diplophase, et le cycle des Champignons supérieurs peut donc être rattaché, du point de vue de la physiologie cellulaire, au type haplodiplobiontique avec prédominance de la phase diploïde sur la phase haploïde.

Le cycle des Champignons Ascomycètes

Le cycle des Ascomycètes, plus particulièrement celui des Ascomycètes supérieurs, n'est pas fondamentalement très différent de celui d'un Champignon Basidiomycète. De la même manière, la fusion des cytoplasmes précède la fusion des noyaux. Étant donné l'intérêt que représentent les Ascomycètes pour l'étude de la méiose, celle-ci sera décrite plus en détail.

Le noyau diploïde qui va subir la méiose se trouve dans une cellule appelée *asque*. A la suite de la méiose, chaque produit haploïde subit une division supplémentaire. L'asque contient donc 8 noyaux haploïdes autour desquels se forment des membranes, qui définissent ainsi 8 spores. L'intérêt présenté par ce type d'organisme est que les différents produits de chaque méiose restent groupés : il est donc possible d'analyser de façon très précise ce qui s'est passé dans chaque méiose prise

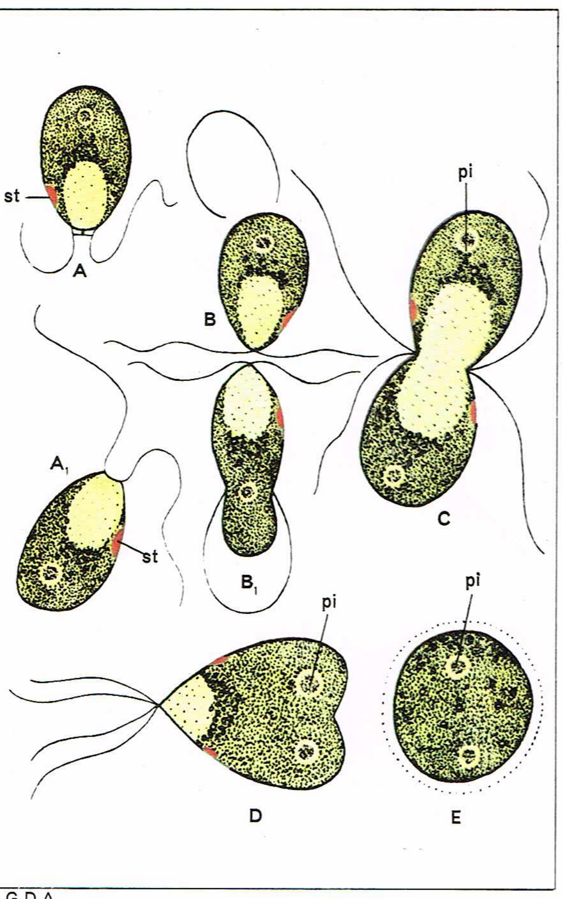
◀ *Page ci-contre, en bas,* alternance de générations *chez une* Mousse *(Bryophyte) : la plante de gauche constitue la phase haploïde (gamétophyte); sur la plante de droite, on observe le sporophyte (phase diploïde) vivant aux dépens du gamétophyte.*



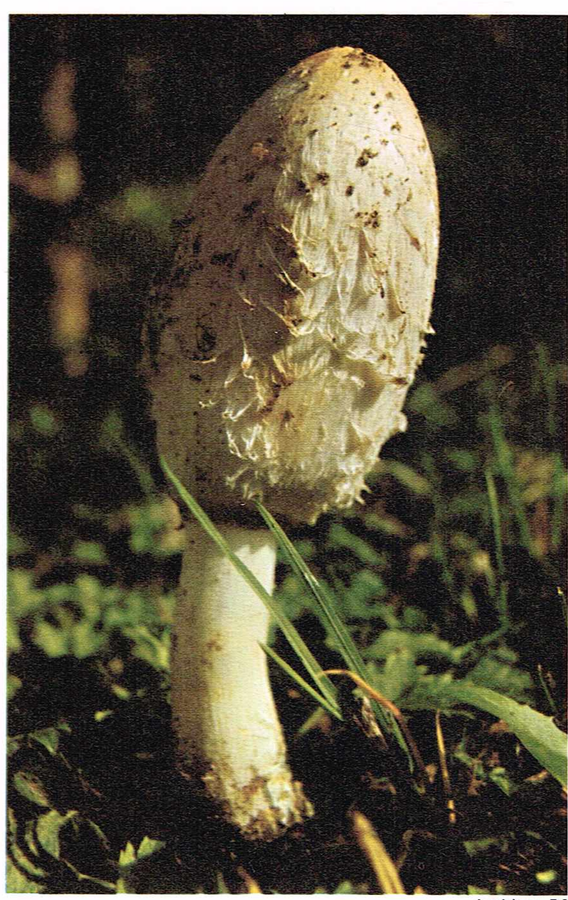
Bavestrelli-Bevilacqua - Prato

◀ Prothalle *de Fougère, constituant le gamétophyte, avec des rhizoïdes (× 30).*

▶ *A gauche, chez* **Chlamydomonas sinowiae,** *la fécondation, union et fusion des deux gamètes, se produit entre deux cellules de même taille (isogamie) : A et A_1 et B et B_1. L'ultime phase est un zygote diploïde (st, stigma; pi, pyrénoïde). A droite, le « chapeau » d'un Champignon Basidiomycète comme le coprin* (**Coprinus comatus**) *est formé d'un ensemble très dense de filaments mycéliens enchevêtrés.*



I.G.D.A.



Archives P2

individuellement. Chez certains organismes, tel *Sordaria,* la disposition des spores dans l'asque est telle que l'on peut déterminer immédiatement, d'une part, les spores sœurs issues de la dernière division postméiotique et, d'autre part, celles issues de la deuxième division de la méiose : les asques sont dits *ordonnés*.

Le déterminisme du sexe

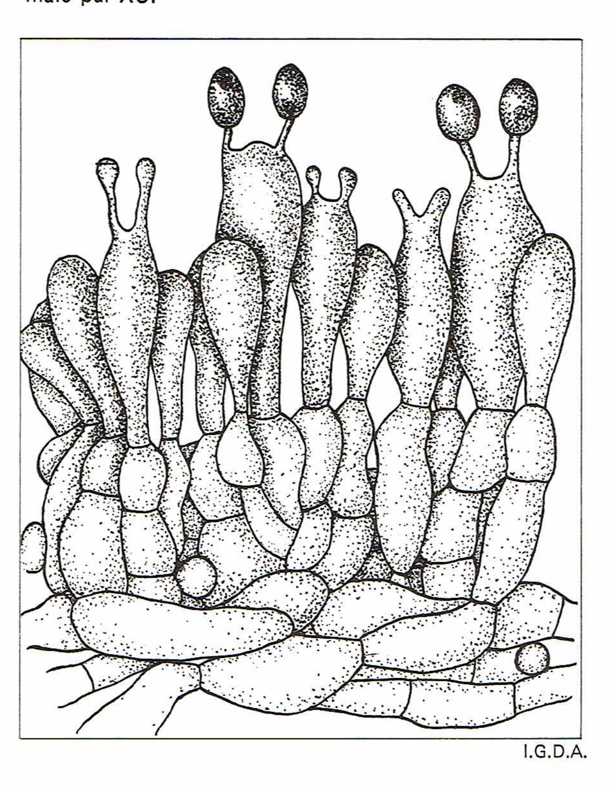
Chez certaines espèces, les sexes sont séparés, c'est-à-dire que certains individus produisent des gamètes mâles et d'autres produisent des gamètes femelles. Cette situation, appelée *gonochorisme*, est pratiquement la règle chez tous les animaux; elle se retrouve chez certaines plantes, dites *dioïques*, comme le frêne, le chanvre, le palmier dattier. Chez d'autres espèces, par contre, chaque individu fabrique aussi bien les gamètes mâles que les gamètes femelles : ces espèces sont dites *hermaphrodites*. L'hermaphrodisme est pratiquement la règle chez les végétaux supérieurs, que l'on qualifie dans ce cas de *monoïques*. Il se rencontre aussi chez certains groupes d'animaux comme les limaces.

Chez la plupart des espèces gonochoriques, Vertébrés aussi bien qu'Invertébrés, la garniture chromosomique diffère selon le sexe. Prenons, par exemple, le cas de la mouche du vinaigre, *Drosophila melanogaster*, qui possède 8 chromosomes. Dans les cellules diploïdes des femelles, on observe que les 8 chromosomes se ressemblent deux à deux : il y a donc bien 4 paires de chromosomes homologues. Chez le mâle, par contre, on observe aussi 8 chromosomes, mais seulement 6 d'entre eux peuvent être constitués en paires; ces 3 paires sont d'ailleurs semblables à 3 des 4 paires observables chez la femelle. Les deux autres chromosomes ne se ressemblent pas. L'un, appelé *chromosome X*, ressemble aux chromosomes de la quatrième paire existant chez la femelle. L'autre, appelé *chromosome Y*, ne ressemble à aucun autre chromosome; on a pu montrer qu'une partie du chromosome Y était, en fait l'homologue d'une partie du chromosome X.

Dans les cellules diploïdes de la femelle, il existe donc 3 paires de chromosomes appelés *chromosomes autosomaux* et 1 paire de *chromosomes sexuels* symbolisés par XX. Chez le mâle, en plus des 3 paires de chromosomes autosomaux, il existe 1 chromosome X et 1 chromosome Y; le mâle est donc symbolisé par XY.

La même observation peut être faite dans l'espèce humaine, chez qui la femme possède 22 paires de chromosomes autosomaux et 1 paire de chromosomes X, l'homme possédant 22 paires de chromosomes autosomaux et 1 X et 1 Y. Chez certaines espèces, comme l'Insecte Hémiptère *Protenor*, le chromosome Y est inexistant : la femelle est symbolisée alors par XX et le mâle par XO.

▶ *Représentation schématique de l'hyménium d'un Basidiomycète. On remarquera les* **basides** *à différents stades de développement et les* **paraphyses** *; deux basides présentent des spores matures.*



I.G.D.A.



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

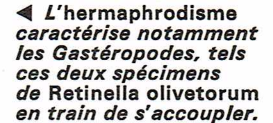
◀ Aspects au microscope d'une portion d'hyménium de Peziza *(Champignon Ascomycète) : on observera quelques asques dont les ascospores sont bien visibles.*

Dans les cas que nous venons de voir, c'est le mâle qui possède les deux chromosomes sexuels différents. Cette situation est valable pour l'ensemble des Mammifères et chez des Insectes, tels les Diptères et les Hémiptères. Par contre, chez les Oiseaux, c'est le mâle qui possède les deux X : ainsi, chez la poule domestique, le mâle est XX et la femelle est XO.

Du fait de cette différence de garniture chromosomique, les deux sexes se comportent différemment lors de la formation des gamètes. Par exemple, chez la drosophile femelle, dont les cellules diploïdes possèdent une paire de chromosomes X, à l'issue de la méiose tous les gamètes seront identiques quant à leur composition chromosomique et contiendront chacun 1 lot de 3 chromosomes autosomaux et 1 chromosome X. Par contre, chez la drosophile mâle, les spermatozoïdes contiendront chacun 1 lot de chromosomes autosomaux mais ils posséderont soit 1 chromosome X, soit 1 chromosome Y. Le mâle produit donc deux types de gamètes : ceux qui portent le chromosome X et ceux qui portent le chromosome Y. Le mâle est appelé de ce fait *sexe hétérogamétique*, alors que la femelle, qui ne produit qu'un seul type de gamète, est appelée *sexe homogamétique*. Sont donc homogamétiques tous les individus ayant une constitution XX et sont hétérogamétiques tous les individus ayant une constitution XY ou XO. Chez les Mammifères, c'est toujours le mâle qui est hétérogamétique et, chez les Oiseaux, c'est la femelle.

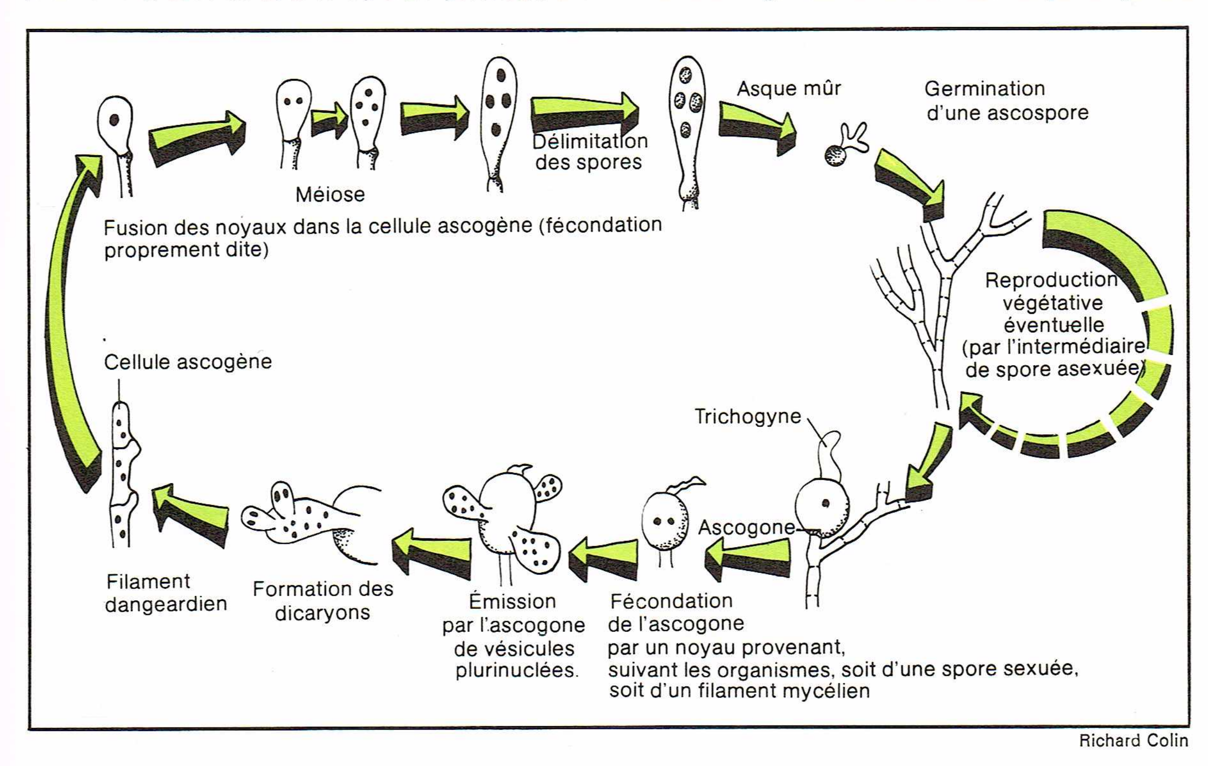


D. Giussani



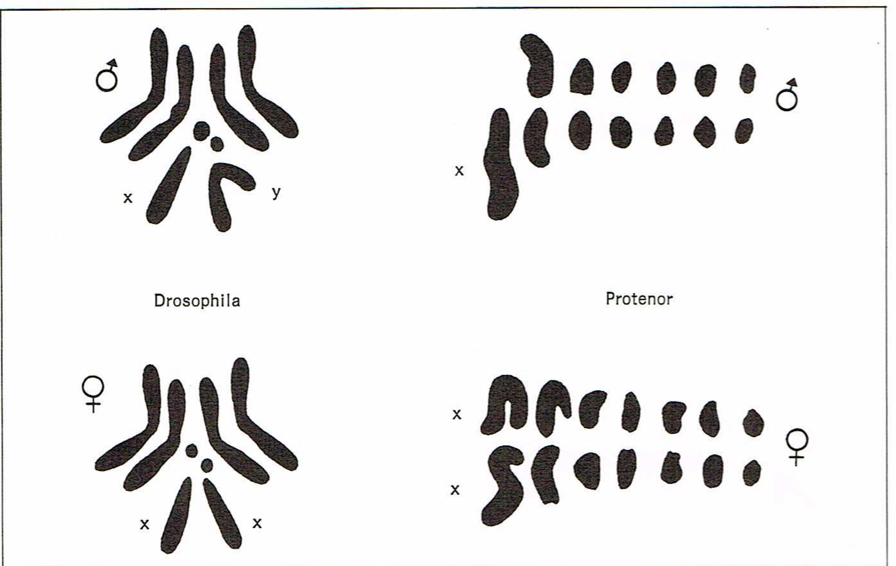
◀ L'hermaphrodisme caractérise notamment les Gastéropodes, tels ces deux spécimens de Retinella olivetorum *en train de s'accoupler.*

A la fécondation, deux cas sont alors possibles. Par exemple, toujours chez la drosophile, le gamète femelle sera fécondé par un gamète mâle contenant soit un chromosome X, soit un chromosome Y. Si le gamète femelle est fécondé par un gamète mâle contenant un chromosome X, la cellule diploïde issue de la fécondation contiendra alors 2 lots de chromosomes autosomaux et 2 chromosomes X, l'un apporté par le gamète femelle et l'autre apporté par le gamète mâle. Cette cellule diploïde contenant 2 chromosomes X donnera naissance à une femelle. Si le gamète femelle est fécondé par un gamète



Richard Colin

◀ Cycle général d'un Ascomycète.



I.G.D.A.

▲ *Représentation schématique des* autosomes *et* des hétérochromosomes *de* Drosophila *et de* Protenor*; pour la première, il existe donc chez la femelle 3 paires de chromosomes autosomaux et une paire de chromosomes sexuels (XX), et chez le mâle 3 paires d'autosomes, 1 chromosome X et 1 chromosome Y (XY); chez le second la femelle est symbolisée par XX et le mâle par XO (Y étant inexistant).*

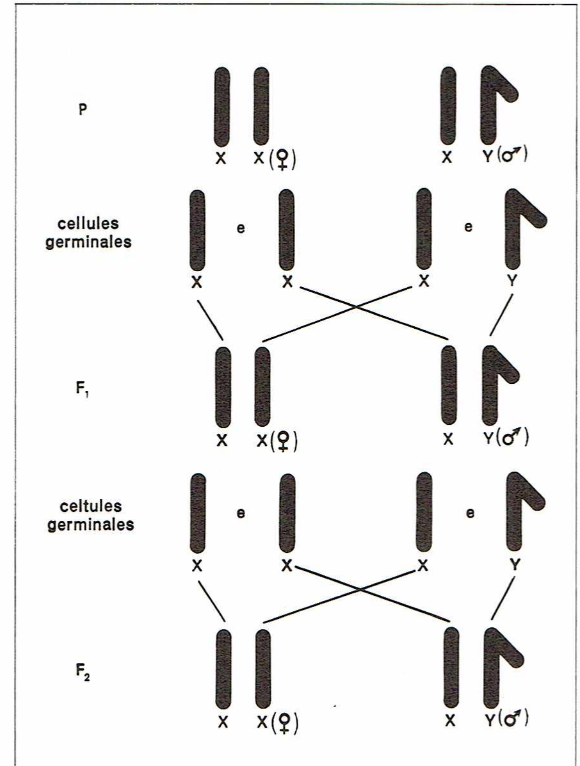
mâle contenant un chromosome Y, la cellule diploïde contiendra alors un chromosome X et un chromosome Y et donnera naissance à un mâle. Le sexe est donc déterminé dès la fécondation par la constitution du gamète mâle, qui participe à la formation de l'œuf. Dans les cas où c'est la femelle qui est le sexe hétérogamétique, c'est donc la constitution du gamète femelle qui détermine le sexe de l'individu qui sera issu de l'œuf.

Une cellule diploïde XY, qui fournira 4 spermatozoïdes, en donnera 2 contenant un chromosome X et 2 contenant un chromosome Y; il y aura donc autant de gamètes contenant un X que de gamètes contenant un Y. Si les gamètes portant le X et les gamètes portant le Y sont aussi viables, aussi mobiles, et aussi « efficaces » les uns que les autres, il y aura autant d'œufs XY que d'œufs XX. Si la viabilité des différents œufs n'est pas affectée par leur constitution génétique, ils donneront naissance à autant de mâles que de femelles. On a estimé que, dans l'espèce humaine, il y avait à la conception à peu près 120 œufs XY (devant donner des mâles) pour 100 œufs XX (devant donner des femelles). La véritable raison de cette disproportion n'est pas parfaitement établie : les gamètes contenant un Y sont-ils plus mobiles que ceux qui contiennent un X? Les ovules sont-ils plus « sensibles » aux gamètes contenant un Y qu'aux gamètes portant un X? Du fait d'une plus grande fragilité des individus XY, cette disproportion diminue avec l'âge : alors qu'à la naissance il n'y a plus que 105 garçons pour 100 filles, à la maturité sexuelle il y a à peu près autant d'hommes que de femmes, et cette proportion, le *sex-ratio*, s'inverse plus tard puisqu'à 85 ans il y a 200 femmes pour 100 hommes.



Quel est le rôle des différents chromosomes sur la détermination du sexe? Pour l'étudier, examinons certains cas d'*anomalies chromosomiques* chez l'homme. Dans le cas du *syndrome de Turner*, les individus ne possèdent qu'un seul chromosome sexuel X. Ces sujets, de petite taille, présentent des caractères sexuels secondaires féminins, avec des glandes mammaires bien développées, mais les gonades sont rudimentaires ou mêmes absentes. Dans le cas du *syndrome de Klinefelter*, au contraire, les sujets sont très grands, ont des caractères sexuels secondaires masculins mais présentent une atrophie des testicules; de plus, leur niveau mental est très bas. Leur formule chromosomique, normale quant aux autosomes, se caractérise par l'existence de 2 chromosomes X et d'1 chromosome Y.

En comparant ces formules anormales aux formules XX et XY, on constate donc que chez l'homme c'est la présence du chromosome Y qui oriente l'individu vers le sexe masculin. On remarque d'autre part que le nombre relatif des chromosomes, la *balance génique*, joue un rôle important puisque l'absence d'un chromosome X ou la présence d'un chromosome X en plus entraîne des anomalies physiologiques graves. Chez la drosophile, le chromosome Y ne joue pas ce rôle masculinisant, puisque les individus ayant la constitution XXY sont des femelles qui, d'ailleurs,



I.G.D.A.

▶ *Modalités de* transmission *des chromosomes X et Y d'une génération à l'autre : P, parents; F1, première génération; F2, seconde génération.*

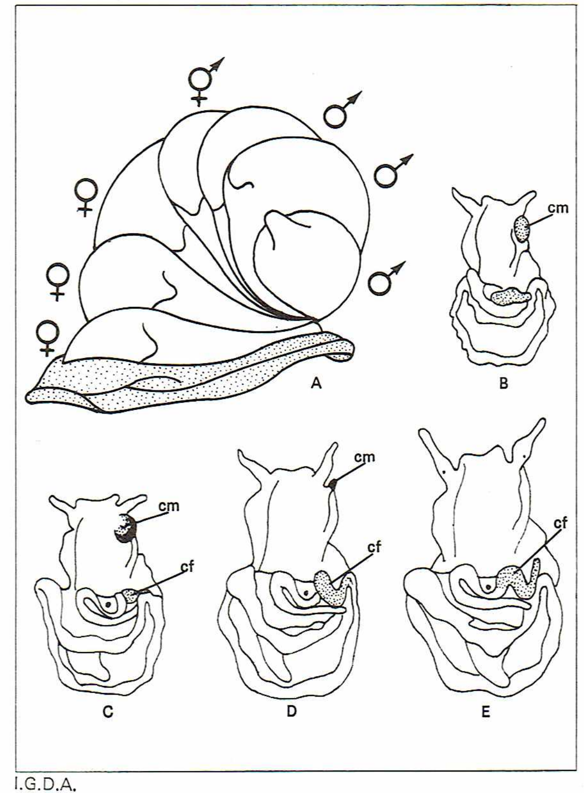
◀ *Chez des Mollusques Gastéropodes comme ceux du genre* **Crepidula**, *les organismes présentent le phénomène* **d'hermaphrodisme successif** *: on trouve plusieurs individus empilés les uns sur les autres ; les plus petits, placés en haut, sont du sexe mâle, et les plus grands, qui sont à la base, sont du sexe femelle.*

H. Chaumeton - Jacana

sont parfaitement fertiles. Chez la drosophile, le sexe est en fait déterminé par le rapport entre les nombres de chromosomes X et de lots d'autosomes.

Dans les cas qui viennent d'être cités, le sexe des individus semble déterminé de façon irréversible dès la fécondation. Il faut néanmoins remarquer que le *sexe génital*, c'est-à-dire le sexe apparent de l'individu avec toutes ses caractéristiques morphologiques et physiologiques, est l'aboutissement de longues transformations qui ont lieu au cours de l'embryogenèse puis de la vie postnatale. Le sexe se réalise lentement sous l'influence des hormones sexuelles. C'est probablement la synthèse de ces hormones qui est sous le contrôle direct des chromosomes. Ainsi, ces hormones « façonnent » l'organisme tout au long de son développement, pour en faire soit un mâle, soit une femelle. Il est remarquable de constater que l'injection d'hormones, surtout lorsqu'elle est pratiquée durant l'embryogenèse, peut modifier non seulement les caractères sexuels secondaires, mais également les gonades elles-mêmes et, dans les cas extrêmes, le type de gamètes auxquels elles donnent naissance.

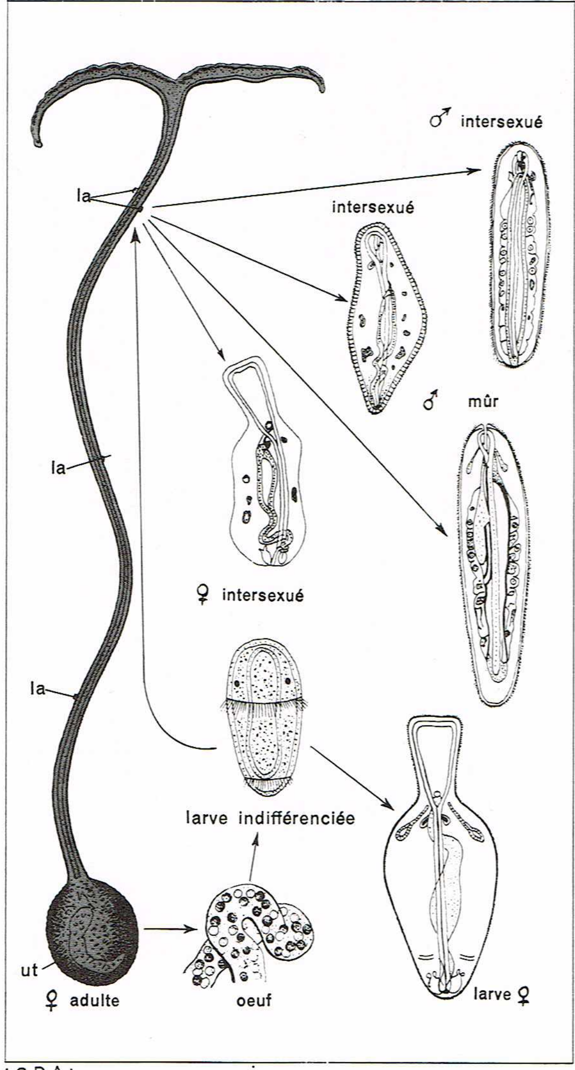
Une expérience naturelle d'inversion du sexe nous est fournie par le cas des *free-martins* chez les Bovidés. Un free-martin est une génisse stérile d'un couple de jumeaux de sexes différents. Il s'agit en fait d'un veau intersexué qui possède des testicules plus ou moins développés, associés à des organes femelles rudimentaires. Cette intersexualité est due au fait que les circulations sanguines placentaires des deux embryons jumeaux sont en communication. Ces jumeaux de sexe différent peuvent donc s'influencer mutuellement par voie sanguine : les hormones sécrétées par les gonades d'un des fœtus agissent sur la différenciation sexuelle de l'autre, entraînant une masculinisation sexuelle du jumeau femelle.



I.G.D.A.

◀ *Représentation schématique des phases sexuelles de* **Crepidula fornicata** *: A, groupe de sept individus de différents âges fixés sur une coquille d'huître ; B-E, passage de la phase mâle à la phase femelle avec réduction progressive de l'organe copulateur mâle (cm) et développement correspondant du conduit génital femelle (cf).*

▶ *A gauche, les différents stades de la différenciation sexuelle chez un Échiuride marin* (Bonellia viridis) : *on observera la petite larve (la) attachée à la longue trompe d'une femelle adulte (ut, utérus). A droite, femelle de* Bonellia fuliginosa.



I.G.D.A.



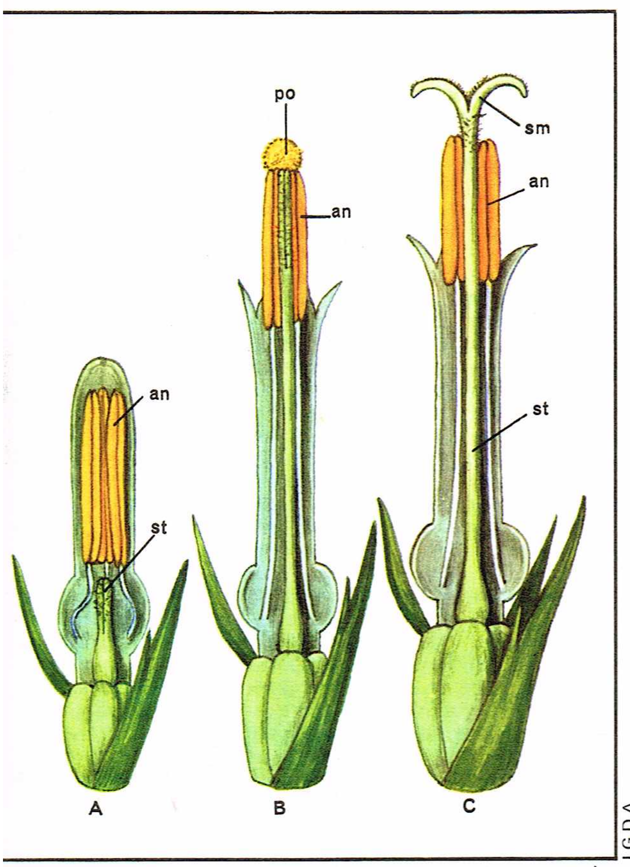
G.S. Giacomelli

Des expériences d'injection d'hormones ont été réalisées en grand nombre sur des espèces diverses : des souris, des rats, des poules, des grenouilles, et ont conduit à la production d'une gamme étendue d'états intersexués et, dans les cas extrêmes, à une inversion complète du sexe génétique. Par exemple, chez la grenouille sud-africaine, *Xenopus*, on a pu transformer des mâles génétiques en femelles productrices d'ovules et réaliser ensuite le croisement entre de vrais mâles et des mâles féminisés. Chez le *Xenopus*, c'est le mâle qui est le sexe homogamétique : il ne produit donc qu'un seul type de spermatozoïdes contenant chacun 1 chromosome sexuel X. Les mâles féminisés vont produire eux aussi 1 seul type d'ovules contenant chacun 1 chromosome X. L'observation a confirmé que tous les œufs issus de ces croisements entre vrai mâle et mâle féminisé ont la même constitution chromosomique XX et sont des mâles.

Chez certaines espèces, le *phénotype sexuel* d'un individu ne découle pas de manière rigide de la constitution du zygote. Il peut soit varier spontanément au cours du vieillissement de l'individu, soit être influencé par les circonstances de sa vie. Une telle variabilité n'exclut pas nécessairement l'existence de facteurs génétiques de détermination du sexe, mais ces facteurs n'exercent plus d'action décisive sur le phénotype. Dans une première catégorie d'organismes, tous les individus évoluent de la même façon : ils sont d'abord de sexe mâle, puis de sexe femelle. Ces espèces sont hermaphrodites si on considère l'ensemble de leur existence, mais, à un instant donné, chaque individu possède un seul sexe : c'est un *hermaphrodisme successif*. Cette situation se rencontre chez des Crustacés et chez des Mollusques Gastéropodes comme ceux du genre *Crepidula*. Les crépidules qui arrivent à maturité sexuelle sont toujours des mâles, lesquels se fixent tôt ou tard sur des individus femelles, puis, après une phase stérile, deviennent eux-mêmes femelles. On peut ainsi trouver plusieurs individus empilés les uns sur les autres : les individus placés en haut, les plus petits, sont du sexe mâle, alors que ceux qui sont à la base, plus grands et plus âgés, sont du sexe femelle. Entre les deux types d'individus, on peut en trouver certains en train d'effectuer leur inversion sexuelle. Il semble que cette transformation des mâles en femelles soit influencée par les conditions de milieu telles que la température, la concentration d'iode et que, d'autre part, les femelles sécrètent des hormones masculinisantes qui ont pour rôle de retarder la transformation des mâles en femelles.

Ce type de sécrétion masculinisante se retrouve chez un Échiuride marin, la bonellie *(Bonellia viridis)*, qui vit dans les anfractuosités des roches méditerranéennes. Chez cette espèce, le dimorphisme sexuel est particulièrement accentué : la femelle, qui possède une trompe rétractile, peut atteindre une longueur de 70 à 80 cm et le mâle ne dépasse jamais la taille de 3 mm. Le mâle vit en parasite, d'abord sur la trompe, puis dans l'intestin et, enfin, à l'intérieur de l'utérus de la femelle. La larve nageuse qui sort de l'œuf est sexuellement indifférenciée. Si elle se fixe sur la trompe d'une femelle adulte, dans la majorité des cas elle se transforme en mâle sous l'action des hormones masculinisantes sécrétées par la femelle. Si elle se fixe sur le fond, elle se transforme alors en femelle.

Ce type de transformation d'un sexe vers l'autre s'observe aussi chez des Vertébrés : les vieilles poules, par exemple, acquièrent très souvent des caractères sexuels secondaires mâles comme la présence d'une crête et un comportement de mâle. Cette transformation peut aller jusqu'à l'inversion complète : ainsi, chez le Poisson d'ornement *Xiphophorus*, bien connu des aquariophiles, les femelles en vieillissant peuvent se masculiniser complètement.

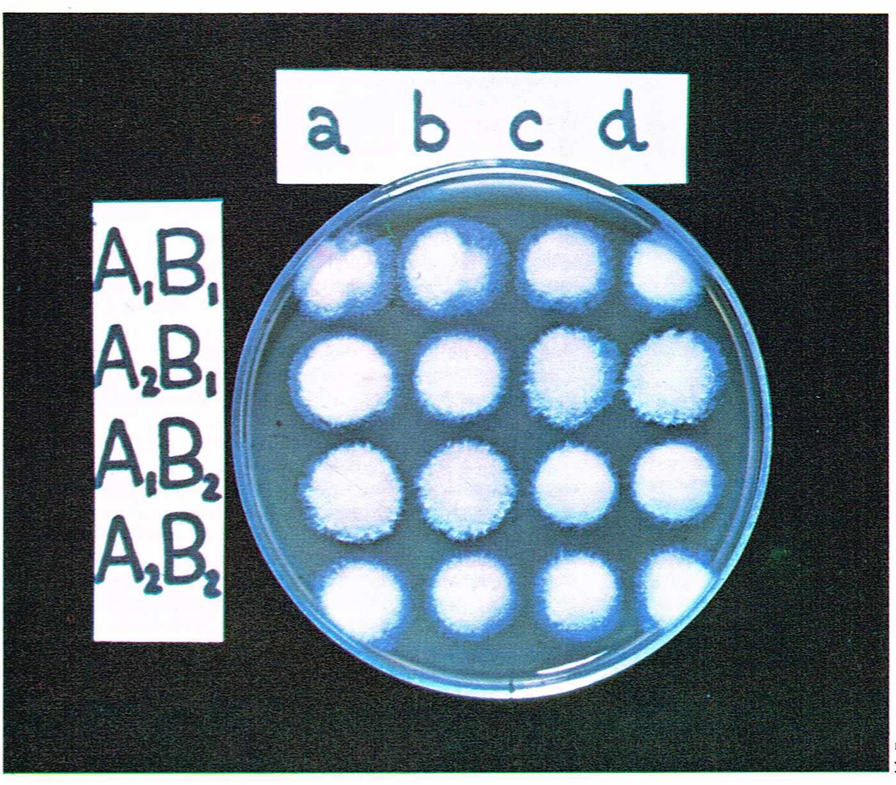


I.G.D.A.


C. Bevilacqua

▲ *Le tournesol (à droite),* Helianthus annuus, *est une espèce dont les fleurs sont hermaphrodites protérandriques : à gauche, représentation schématique du développement montrant (A) que les anthères (an) arrivent à maturation avant les organes femelles (st ; style) à peine ébauchés ; B, les anthères font jaillir hors du tube floral la masse pollinique, laquelle sera transportée par un Insecte sur une autre fleur (C) présentant déjà un style développé et un stigmate (sm) ouvert à l'extérieur.*

▼ *Les facteurs d'incompatibilité sont très fréquents chez les Champignons, tel le coprin : on voit ici que les mycéliums a et b forment des dicaryons avec le mycélium A_1B_2 et sont donc A_2B_1. De même, les mycéliums c et d sont A_1B_2 (ils forment des dicaryons avec A_2B_1).*



Y. Brygoo

Systèmes d'incompatibilité

Dans tous les cas que nous venons d'envisager, qu'il s'agisse du gonochorisme ou de l'hermaphrodisme successif, on observe que la fécondation n'est jamais réalisable sans l'intervention de deux individus, l'un mâle et l'autre femelle. Chez les espèces à *hermaphrodisme simultané*, c'est-à-dire chez les espèces dont chaque individu possède à la fois des gonades mâles et des gonades femelles, on remarque que l'*autofécondation* (la fécondation des gamètes femelles par les gamètes mâles du même individu) est rare. Chez la limace, par exemple, c'est une fécondation réciproque qui a lieu au cours de l'accouplement. De même, chez les végétaux, hermaphrodites pour la plupart, on observe que, souvent, à cause de mécanismes variés, l'autofécondation est difficile ou même impossible : les anthères et le pistil d'une même plante peuvent ne pas arriver à maturité en même temps ; la disposition des pétales peut rendre l'autofécondation difficile ; il existe même certains mécanismes génétiques qui excluent complètement l'autofécondation.

Examinons plus en détail ce dernier type de mécanisme. L'autofécondation est rendue impossible par l'existence de *facteurs d'incompatibilité* (gènes) localisés sur les chromosomes. Par exemple, une plante diploïde portant le facteur S_1 sur un chromosome et le facteur S_2 sur le chromosome homologue produira des grains de pollen qui porteront soit S_1, soit S_2. L'incompatibilité se caractérise par le fait que cette plante S_1S_2 ne permettra pas aux grains de pollen portant S_1 ou S_2 de germer sur ses stigmates, alors que des grains de pollen portant des facteurs S_3 ou S_4 différents de S_1 ou S_2 pourront germer sur les stigmates S_1S_2. Une plante S_2S_3 produira les deux types de grains de pollen S_2 et S_3, et c'est seulement les grains de pollen S_3 qui pourront germer sur les stigmates de la plante S_1S_2.

Ces facteurs d'incompatibilité sont très fréquents chez les végétaux inférieurs comme les Champignons. Chez le coprin, par exemple, deux mycéliums primaires ne pourront former un dicaryon puis des fructifications que s'ils diffèrent au niveau de deux facteurs A et B. Un mycélium A_1B_1 pourra former un dicaryon avec un mycélium A_2B_2, mais ne pourra pas former de dicaryon avec les mycéliums A_1B_2, A_2B_1 et A_1B_1.



G. Mazza

▲ ***Chez les espèces parthénogénétiques d'*Artemia salina*, le nombre des chromosomes est conservé, par suite de la fusion, après la formation de l'ovule, de deux produits de la méiose : l'ovule et un globule polaire.***

La parthénogenèse

La parthénogenèse est une forme de reproduction sans fécondation qui peut néanmoins être considérée comme un cas particulier de la reproduction sexuée. En effet, chez les espèces où cette forme de reproduction existe, le nouvel organisme provient d'une cellule sexuelle typique : un *ovule*. Ce mode de reproduction a été adopté par des organismes divers appartenant à de nombreux groupes du règne animal (Échinodermes, Nématodes, Trématodes, Annélides, Mollusques, Crustacés, Myriapodes, Acariens et Insectes) ou végétal. Cependant, aucun groupe important ne se reproduit parthénogénétiquement dans sa totalité ; les diverses espèces qui ont adopté ce mode de reproduction l'ont fait de façon indépendante, et celle-ci a pris des formes très différentes d'un groupe à l'autre : elle peut être *obligatoire*, c'est-à-dire constituer le système de reproduction exclusif, ou *facultative*, c'est-à-dire ne pas exclure la reproduction biparentale, ou encore *cyclique*, c'est-à-dire alterner avec un mode de reproduction sexuée classique. Elle peut être productrice de femelles *(thélytoque)* ou de mâles *(arrhénotoque)*.

Les modalités très variées de la parthénogenèse et sa présence, ici et là, dans divers groupes montrent qu'en fait la parthénogenèse n'est qu'une modification secondaire des processus normaux de la reproduction sexuelle. L'absence de fécondation devrait théoriquement donner naissance à des organismes ayant un nombre de chromosomes égal à la moitié de celui des parents. Or, cela n'est pas le cas car, comme on le verra, des mécanismes variés permettent d'obtenir des individus diploïdes à partir de l'ovule haploïde non fécondé.

La **parthénogenèse thélytoque** obligatoire se rencontre de façon sporadique dans de nombreux groupes, en particulier chez les Arthropodes. Elle peut concerner soit l'ensemble d'une espèce, toujours apparentée alors à une espèce bisexuée normale, soit seulement certaines races d'une même espèce, où on trouve alors des populations à reproduction sexuée classique et des populations ne comprenant que des femelles à développement parthénogénétique.

L'exemple le plus classique est celui d'un Crustacé Branchiopode, *Artemia salina*, chez lequel on connaît 4 races. Une de ces races, diploïde ($2n = 42$), est normalement bisexuée ; les trois autres sont parthénogénétiques et sont respectivement diploïde, tétraploïde et octoploïde. Chez ces races parthénogénétiques, le nombre de chromosomes est conservé par suite de la fusion, après la formation de l'ovule, de deux produits de la méiose : l'ovule proprement dit et un globule polaire.

Chez d'autres espèces, par exemple chez le papillon *Selebonia*, les modalités du maintien du nombre de chromosomes s'effectuent plus tardivement (alors que le développement embryonnaire commence), par fusion des deux premiers noyaux de la segmentation. Chez d'autres espèces, par exemple chez la sauterelle *Saga pedo*, il y a un escamotage complet de la méiose.

La **parthénogenèse arrhénotoque** est une parthénogenèse facultative : l'œuf, qu'il soit ou non fécondé, peut se développer. L'œuf fécondé donnera naissance à une femelle, alors que l'œuf non fécondé donnera naissance à un mâle. Ce type de parthénogenèse se rencontre dans la quasi-totalité des espèces d'Hyménoptères.

Nous prendrons pour exemple l'abeille domestique, *Apis mellifica*. Les colonies que forme cette espèce sont constituées de trois sortes d'individus : une *femelle fertile*, ou *reine*, des *femelles stériles*, ou *ouvrières*, et enfin des *mâles*, ou *faux-bourdons*. Au cours de son vol nuptial, la reine s'accouple à un ou plusieurs faux-bourdons et reçoit alors une provision de spermatozoïdes qui, emmagasinés dans un petit réceptacle *(spermathèque)*, conserveront leur activité pendant les trois ou quatre ans que dure la vie reproductrice de l'Insecte. La spermathèque est une ampoule à parois musculeuses et contractiles qui communique avec le conduit par où passent les œufs : suivant qu'elle s'ouvre ou se ferme lors du passage de l'œuf, celui-ci sera fécondé ou non. Selon la loge qu'il occupera et l'alimentation qui lui sera accordée pendant son développement, l'œuf fécondé, donc diploïde, donnera une reine ou une ouvrière.

L'œuf non fécondé, donc haploïde, se développe parthénogénétiquement et donne un mâle ; c'est ainsi que les reines non fécondées ne donnent naissance qu'à des mâles (ruches bourdonneuses). Le mâle commence donc son développement à l'état haploïde. Les tissus somatiques cependant ne restent pas haploïdes et deviennent rapidement hautement polyploïdes. Par contre, la lignée germinale reste haploïde et, de ce fait, le mécanisme de formation des spermatozoïdes est tout à fait différent de celui existant chez un mâle diploïde ; en particulier, aucune méiose n'a lieu ; seule subsiste la phase de maturation qui transforme les cellules haploïdes immobiles en spermatozoïdes mobiles. Il est à remarquer que les spermatozoïdes d'un mâle donné auront tous la même constitution chromosomique, c'est-à-dire celle de l'œuf haploïde dont celui-ci est issu. Chez la reine diploïde, par contre, l'ovogenèse est normale.

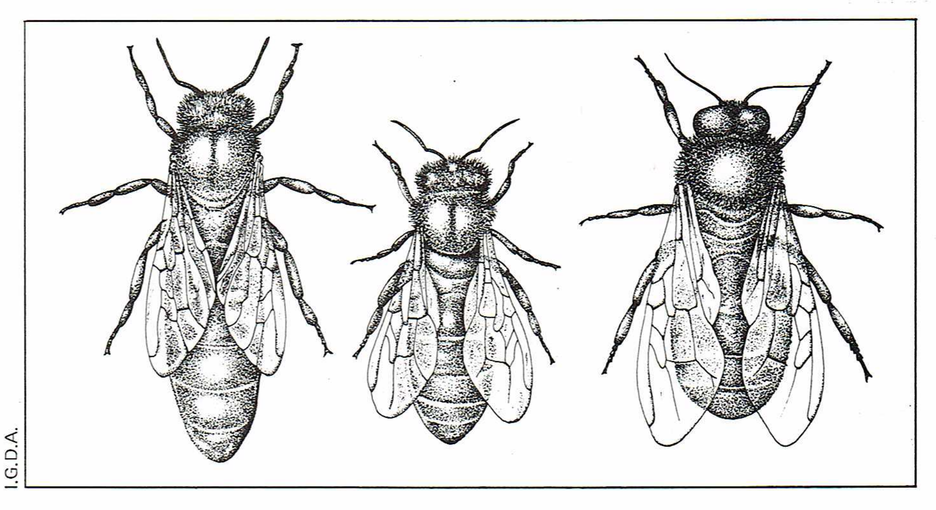
Ce type de parthénogenèse correspond en fait à un cas extrême du déterminisme XO du sexe. Les mâles, au lieu d'avoir un chromosome X et un double lot de chromosomes autosomaux, ne possèdent qu'un lot de chromosomes.

Chez les espèces à *parthénogenèse cyclique*, des générations représentées exclusivement par des femelles parthénogénétiques alternent avec des générations où coexistent les deux sexes, qui, par reproduction sexuée, donneront naissance uniquement à des femelles. Ce type de parthénogenèse se retrouve, outre chez les daphnies et les Rotifères, chez deux groupes importants d'Insectes, les Cynipides (Hyménoptères) et les pucerons. Durant la belle saison, aussi bien chez les pucerons que chez les daphnies et les Rotifères, on ne rencontre que des femelles, lesquelles, par parthénogenèse, engendrent d'autres femelles. Ce type de reproduction parthénogénétique est thélytoque.

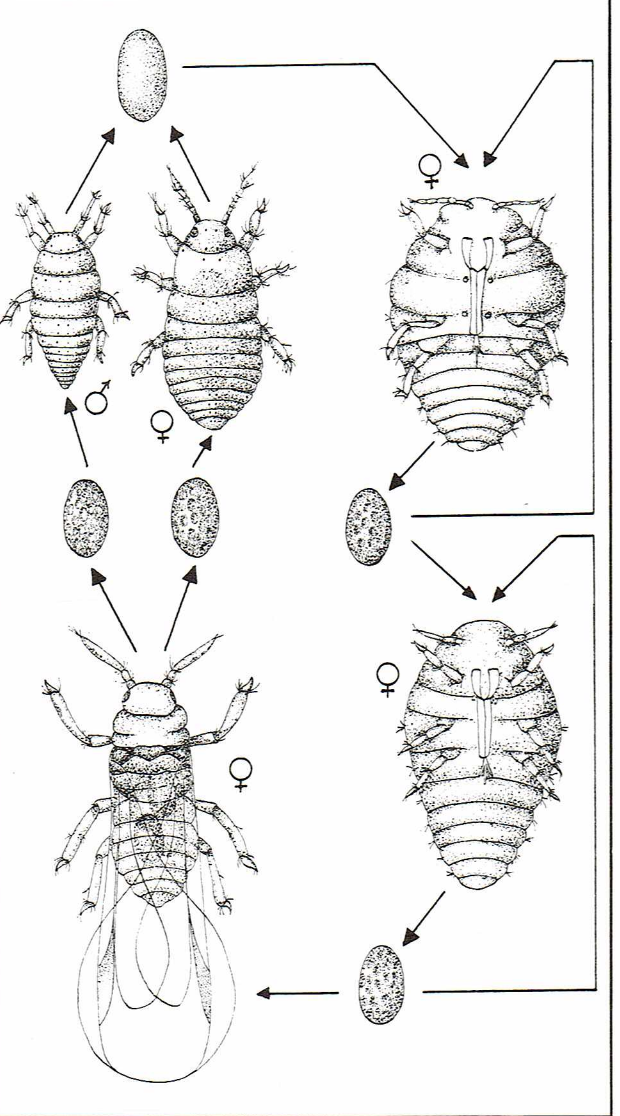
Chez les pucerons et les daphnies, ces femelles sont de plus vivipares, c'est-à-dire qu'elles mettent au monde leurs jeunes tout formés. Au bout de plusieurs générations, quand les conditions deviennent défavorables, certaines femelles, les *sexupares*, donnent naissance à des individus sexués : mâles et femelles. Les femelles proviennent d'un ovule n'ayant pas subi la méiose et qui est donc resté diploïde. Les mâles, eux, proviennent d'un ovule dont seuls les chromosomes sexuels ont subi la méiose. Les femelles

ont ainsi une garniture complète de chromosomes autosomaux et 2 chromosomes X, alors que les mâles, avec le même nombre d'autosomes, n'ont qu'1 chromosome X. Cette parthénogenèse qui donne naissance à des individus des deux sexes est appelée *parthénogenèse deutérotoque*. Chez ces mâles et ces femelles, la gamétogenèse est normale. Après l'accouplement, les femelles déposent des œufs, qui écloront au printemps suivant pour produire des femelles parthénogénétiques, à partir desquelles repartira un nouveau cycle.

Chez les Cynipides, Insectes responsables des tumeurs (ou galles) qu'ils déterminent dans les feuilles ou dans les bourgeons des arbres, il n'existe que deux générations par an : l'une est unisexuée *(femelles parthénogénétiques)* au printemps et l'autre est bisexuée en automne. Au printemps, les œufs d'hiver éclosent et donnent naissance à des femelles parthénogénétiques. Ces femelles déposent leurs œufs sur les feuilles ou les chatons de chêne. Autour de ces œufs, se forment de petites galles en forme de groseilles, à l'intérieur desquelles se développent les larves. Ces larves donneront naissance à des mâles et des femelles. Ces dernières, à l'inverse de leur mère, sont incapables d'enfanter sans fécondation. Leur aspect est d'ailleurs très différent de celui des premières, ce qui a fait longtemps croire qu'elles appartenaient à une autre espèce, qui avait été baptisée *Neuroterus baccarum*. Après avoir été fécondées, elles déposent leurs œufs sur la face inférieure des jeunes feuilles de chêne, où elles suscitent la formation de galles lenticulaires. Ces galles tomberont avec les feuilles mortes à terre et y passeront l'hiver. Au printemps, naîtront les femelles parthénogénétiques et le cycle recommencera.


I.G.D.A.

▲ *Chez les abeilles, la* **parthénogenèse arrhénotoque** *est classique. Ici, chez* **Apis mellifica,** *on reconnaît la reine (à gauche), une ouvrière ou femelle stérile (au centre) et un mâle ou faux-bourdon (à droite).*



I.G.D.A.

◀ *Représentation schématique du cycle de reproduction des pucerons; il s'agit d'une* **parthénogenèse cyclique** *de type thélytoque : des générations représentées exclusivement par des femelles parthénogénétiques alternent avec des générations où coexistent les deux sexes, qui, par reproduction sexuée, donnent uniquement naissance à des femelles.*

Conclusion

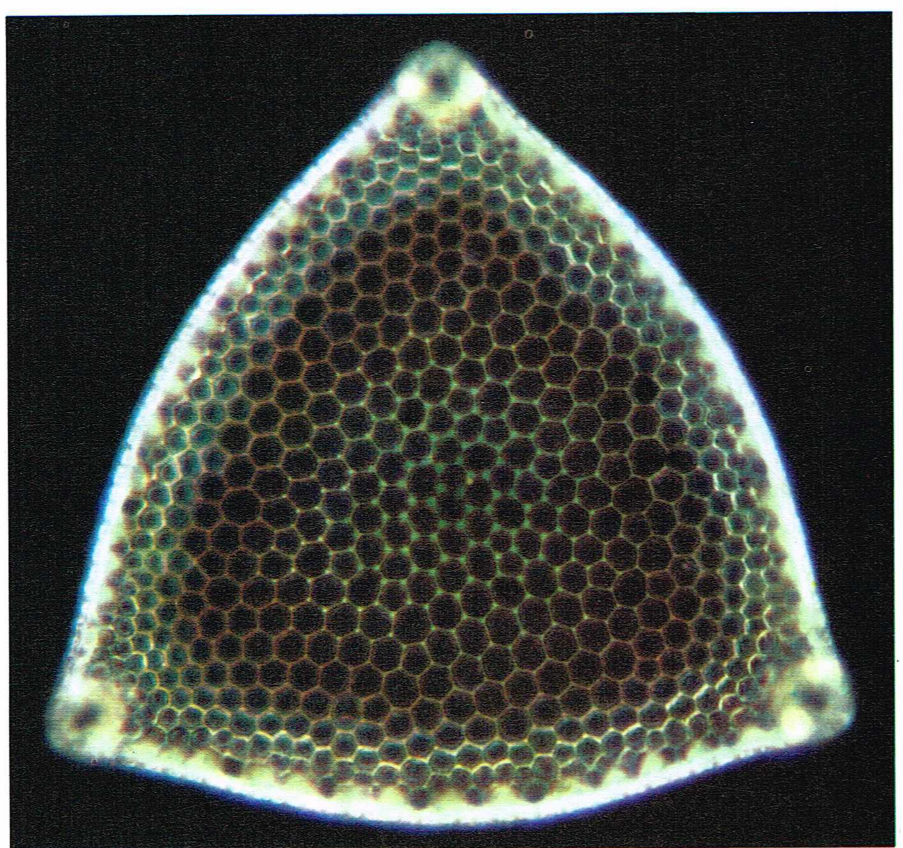
Reproduction sexuée et reproduction asexuée

Si la recombinaison génétique est connue même chez les organismes les plus simples et les moins évolués, la reproduction asexuée est très répandue chez différents organismes dont les degrés de complexité peuvent être plus ou moins grands. Cette constatation pose le problème de savoir quels sont pour les différentes espèces les avantages et les inconvénients respectifs des deux modes de reproduction, sexuée et asexuée. Si l'on suppose que la reproduction asexuée est le mode de reproduction le plus primitif, la reproduction sexuée serait apparue plus tard dans l'histoire des êtres vivants et probablement plusieurs fois, de façon indépendante. Au contraire, si l'on suppose que c'est la reproduction sexuée qui est le mode le plus primitif, c'est la reproduction asexuée qui serait apparue plusieurs fois, de façon indépendante. Au cours des dernières années, ces deux hypothèses ont été soutenues, avec peut-être un certain avantage pour la seconde, depuis la découverte de la recombinaison génétique chez les Bactéries et les virus.

Il est donc intéressant de voir quelle est la signification de la reproduction asexuée dans l'évolution.

Le mode de *reproduction asexuée* suppose l'existence d'un moyen rapide de multiplication d'un génotype particulier. Si ce génotype est bien adapté à une condition donnée de milieu, la reproduction asexuée est une méthode plus efficace que la reproduction sexuée pour coloniser rapidement ce milieu et pour y maintenir une population bien adaptée. Par l'intermédiaire de la recombinaison génétique, la reproduction sexuée est, en effet, productrice d'une grande variété de génotypes différents, dont beaucoup peuvent être faiblement adaptés à cette condition définie de milieu. De plus, la reproduction asexuée offre l'avantage, parce qu'elle ne nécessite pas l'intervention d'un autre partenaire, de permettre une reproduction même lorsque la population est peu nombreuse et les probabilités de rencontre de deux individus très faibles. Cependant, la reproduction asexuée ne permet pas une adaptation rapide à des changements des conditions d'environnement, la seule possibilité alors offerte étant l'apparition de mutations favorables. Chez les Bactéries, qui existent en très grand nombre et qui se reproduisent très rapidement, cette méthode d'adaptation peut être suffisante pour empêcher l'extinction des espèces. Mais, pour les autres groupes, cette possibilité n'est pas suffisante.

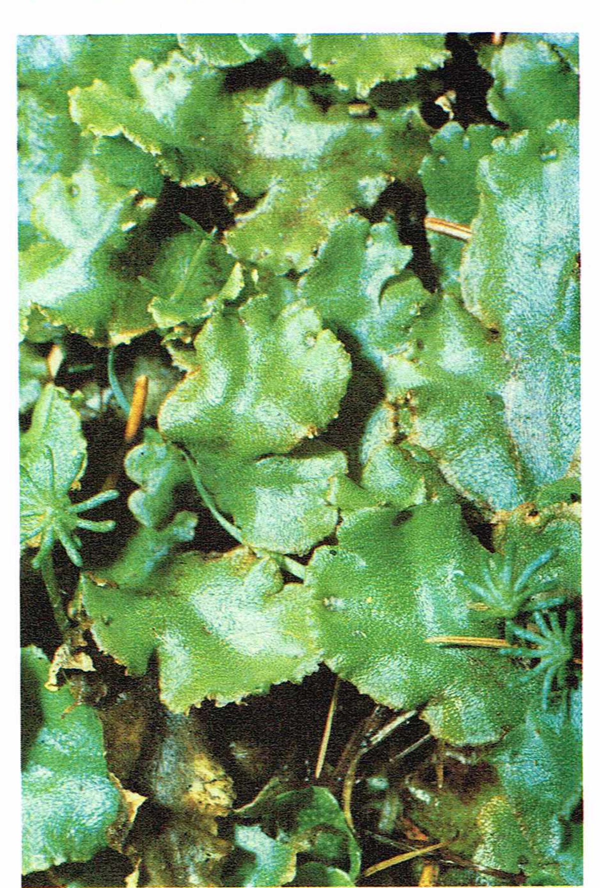
La *reproduction sexuée*, du fait des remaniements entre gènes qui ont lieu à chaque génération, permet la fabrication de nouveaux génotypes qui seront ensuite sélectionnés selon leur adaptation au milieu. Bien qu'à un moment et dans un endroit donnés, une population bien adaptée, à reproduction sexuée, ne donne naissance qu'à un faible pourcentage d'individus bien adaptés au milieu, une telle population est susceptible de bien supporter des changements dans les conditions de milieu et d'envahir de nouvelles niches écologiques. Il n'est donc pas étonnant que chez les organismes complexes et appelés supérieurs, il semble que la reproduction sexuée a été le mécanisme qui a permis le développement de cette complexité.



C. Bevilacqua

▲ *Une Diatomée :* **Triceratium secedens ;** *chez ces végétaux, la phase haploïde est réduite aux gamètes.*

Si le mode de reproduction sexuée était effectivement le mode le plus primitif, la reproduction asexuée en dériverait, et les états asexués de beaucoup de Bactéries, de Protozoaires ou d'autres groupes de micro-organismes pourraient s'interpréter comme une adaptation. Beaucoup de ces organismes vivent d'ailleurs dans des milieux où les conditions sont relativement stables et où la reproduction asexuée rapide est, de fait, avantageuse. Les autres organismes asexués, qui vivent dans des conditions instables, ne sont pas capables de se multiplier aussi rapidement mais peuvent s'adapter brutalement, par de simples mutations, alors que les organismes à reproduction sexuée ne peuvent développer des génotypes favorables qu'à travers la recombinaison génétique.



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

▶ *Une* **Hépatique** *à thalle, commune dans les lieux humides :* **Marchantia polymorpha ;** *son cycle est presque exclusivement* **haploïde.**

Haploïdie et diploïdie

Bien que l'on puisse avoir des doutes sur les premières étapes des phénomènes sexuels, il semble assez clair que l'haploïdie est l'étape primitive à partir de laquelle la diploïdie est apparue chez un certain nombre de groupes différents non apparentés. Dès que le niveau d'organisation d'un organisme est tel que le matériel génétique est agencé en chromosomes, on y observe la mitose et la méiose.

Les Flagellés et les Algues vertes les plus primitifs sont haploïdes. La seule cellule diploïde de leurs cycles respectifs est représentée par le zygote, qui subit immédiatement la méiose sans connaître de mitose. Au contraire, au cours de l'évolution des plantes et des animaux, on observe que la tendance a été à la réduction de la phase haploïde et à l'augmentation de l'importance de la phase diploïde, ce qui laisse supposer que l'état diploïde a représenté un avantage adaptatif.

Les Métazoaires et certains groupes de Protozoaires sont entièrement diploïdes à l'exception de leurs gamètes : la méiose donne directement naissance aux gamètes. Chez les végétaux, on observe la même situation chez les Diatomées, les Levures, ainsi que chez certaines Algues vertes et Algues brunes. Chez certaines Algues, où alternent une phase haploïde et une phase diploïde, on remarque que les représentants de chacune de ces phases sont très semblables morphologiquement. Il semble que c'est de ce type de cycle que sont issus les deux autres types : celui à phase diploïde prépondérante et celui à phase haploïde plus importante.

Sont à cycle presque uniquement diploïde toutes les plantes vasculaires et certaines Algues brunes. Sont à cycle presque exclusivement haploïde les Mousses, les Hépatiques et quelques groupes d'Algues. L'évolution des végétaux étant dans le sens de la conquête de la terre ferme et de l'abandon de l'élément liquide, on pourrait croire que la diploïdie n'est pas une acquisition postérieure à l'haploïdie, puisque les Algues brunes sont diploïdes et que sur terre les Champignons ont une phase haploïde très importante. De plus, les Mousses, qui sont considérées comme des intermédiaires entre les Algues haploïdes et les plantes vasculaires, sont apparemment plus récentes que les plus vieilles plantes vasculaires et représentent une fin de phylum plus qu'une forme de transition. Il apparaît ainsi qu'il ne faut pas rechercher les avantages adaptatifs de la diploïdie en relation avec la conquête de la terre ferme.

Chez un organisme haploïde, le génotype est directement exprimé ; ainsi, tous les génotypes d'une population sont à tout moment exposés à la sélection, et seule une faible variabilité sera possible puisque tous les mutants défavorables seront éliminés. Par contre, chez un organisme diploïde, une très grande variabilité sera présente sous forme de gènes récessifs à l'état hétérozygote. Une partie de cette variabilité sera mise en circulation et soumise à la sélection à chaque génération. De cette façon, une population conserve la possibilité de s'adapter aux changements des conditions environnementales tout en restant parfaitement adaptée aux conditions existantes. Cette plasticité n'est pas due uniquement à l'existence des gènes récessifs, mais aussi aux effets d'épistasie et à l'hétérozygotie.

BIBLIOGRAPHIE

LAMOTTE M. et L'HÉRITIER Ph., *Biologie générale,* t. 1 et 2, Éd. Doin, 1968. - ROSTAND J., *Esquisse d'une histoire de la biologie,* Éd. Gallimard, 1945. - ROSTAND J. et TÉTRY A., *la Vie,* Éd. Larousse, 1962. - THÉODORIDES J., *Histoire de la biologie,* P.U.F., 1965. - MERREL D. J., *Evolution and Genetics,* Holt, Rinehost and Winston, New York, 1962. - SRB A. M., OWEN R. D., EDGAR R.S., *General Genetics,* Freeman and Co, San Francisco, London, 2e éd., 1965.

Y. Le Chapelain - Pitch



▲ *Le* **phénotype** *est l'ensemble* **des caractères** *(la pigmentation différente des cheveux, par exemple) d'une cellule ou d'un individu. Il correspond à* **l'expression du génotype** *de la cellule ou de l'individu, dans un contexte donné.*

GÉNÉTIQUE ET HÉRÉDITÉ

La génétique fait son apparition vers le milieu du XIXe siècle. C'est une période clé dans l'histoire de la biologie. La théorie de l'évolution est proposée par Charles Darwin dans *l'Origine des espèces* en 1859. Cette théorie voit dans l'adaptation au milieu l'agent principal de l'évolution organique. C'est l'espèce tout entière qui répond aux modifications de l'environnement : la sélection des plus aptes, mesurée en termes de capacité reproductrice, est le moteur de l'évolution. La reproduction est donc un processus essentiel à celle-ci : elle est responsable à la fois de la stabilité des formes et de leur variabilité.

La théorie cellulaire, selon laquelle les plantes et les animaux sont constitués « d'unités fondamentales » auxquelles les microscopistes Schleiden et Schwann, en 1839, et, avant eux, des embryologistes (von Baer, en 1827) donnent le nom de *cellules,* s'établit définitivement. Ainsi étaient détruites les idées préformistes selon lesquelles toute semence contenait en format réduit la forme même de l'être auquel elle donnait naissance. Ni les gamètes ni l'embryon à ses débuts ne ressemblent à un adulte en miniature. Le développement est « épigénétique » : une série de transformations se produisent au cours des divisions cellulaires, dont l'adulte constitue la dernière forme. Ainsi, d'une génération à la suivante, l'élément persistant qui se transmet, c'est la cellule. Les spermes sont des cellules vivantes, c'est-à-dire « une goutte de protoplasme enfermée dans son enveloppe » (F. Jacob).

Parallèlement à l'établissement des théories qui sont à la base de la biologie contemporaine, la méthode expérimentale est introduite en biologie par Claude Bernard. Désormais, l'expérimentateur intervient dans les processus biologiques, modifie les conditions de leur déroulement, mesure et analyse les résultats de ces modifications.

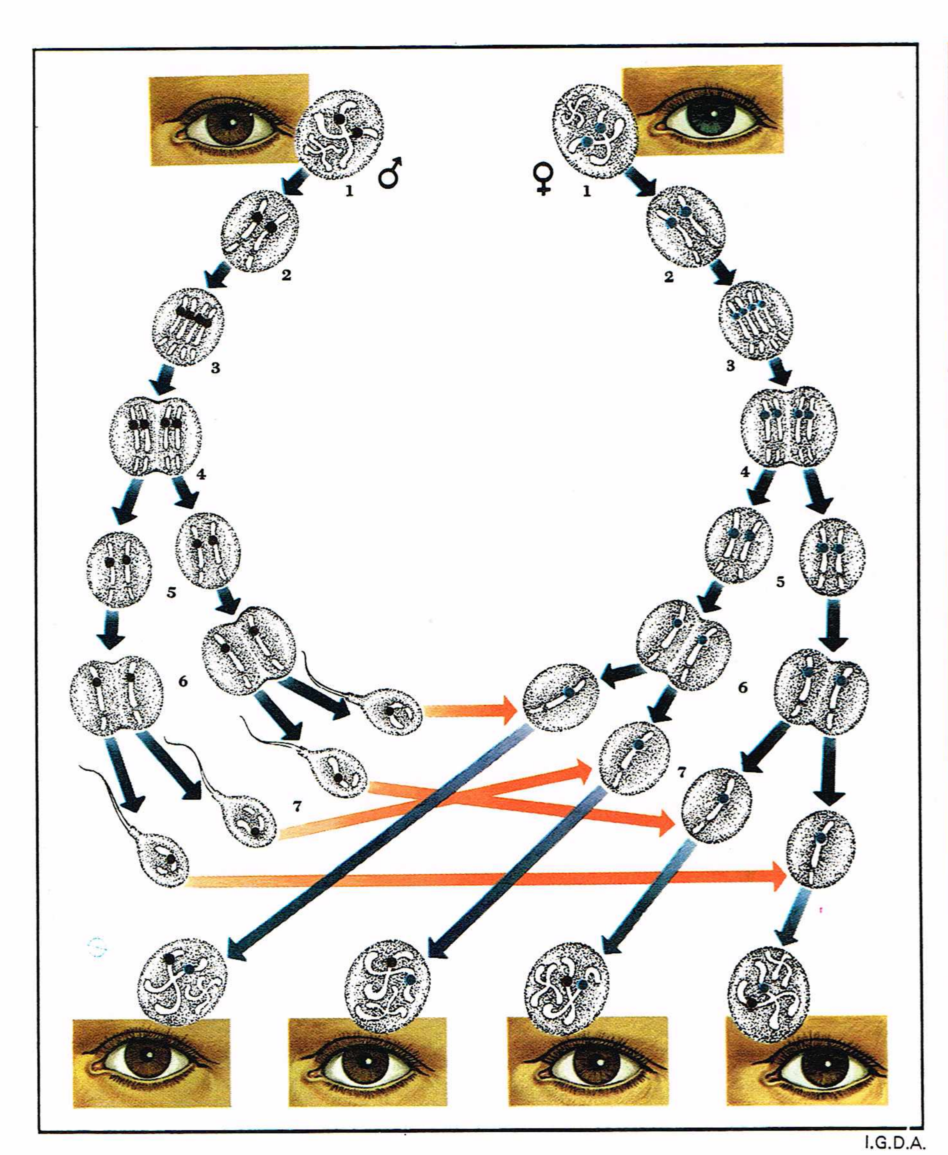
C'est en Gregor Mendel que vont se rencontrer la connaissance théorique des problèmes posés par la biologie contemporaine et le talent de l'expérimentateur rompu aux techniques de l'horticulture.

La découverte du gène : l'œuvre de Mendel

C'est à Brno en Moravie (région de l'actuelle Tchécoslovaquie) que l'Autrichien Mendel conduisit ses expériences. En choisissant le pois *(Pisum),* il utilisait un matériel particulièrement favorable. En effet, dans ce genre, les fleurs sont pratiquement toujours fécondées par leur propre pollen (autofécondation) ; l'autofécondation tend à établir des races pures, c'est-à-dire qu'au cours des générations chacune des plantes donne des descendants tous semblables et constants.

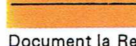
Contrairement à tous ceux qui, antérieurement, avaient accumulé les observations concernant les caractéristiques des hybrides, Mendel est le premier à avoir défini et établi un protocole d'expérimentation. Tout d'abord, les caractères étudiés sont dès le départ parfaitement bien définis. « Quelques formes bien déterminées du genre *Pisum* ont des caractères différentiels constants et faciles à reconnaître avec certitude. » Les caractères mis en expérience se rapportent, par exemple, à la forme des graines mûres (pois rond ou ridé), aux différences de coloration des cotylédons, aux différences de forme de la gousse mûre. Ensuite, les caractères étudiés qui différencient les deux plantes à croiser sont en nombre restreint. Mendel étudie une, deux, puis trois différences simples. Enfin, il analyse de nombreux descendants, sur plusieurs générations successives, de façon à épuiser tous les types d'associations de caractères susceptibles de se produire.

La discontinuité introduite délibérément dans le choix des caractères permet un dénombrement simple et rigoureux à chaque génération et, par conséquent, l'application élémentaire du calcul des probabilités.



I.G.D.A.

fleur	
gousse	grain
grain	
grain rond	grain ridé
cotylédons jaunes	cotylédons verts
enveloppe blanche et fleurs blanches	enveloppe verte et fleurs violettes
gousse	
gousse unie	gousse avec des constrictions
gousse jaune	gousse verte
tige	
gousses et fleurs dispersées le long de la tige	gousses et fleurs groupées à l'extrémité de la tige
tige longue	tige courte



Document la Recherche

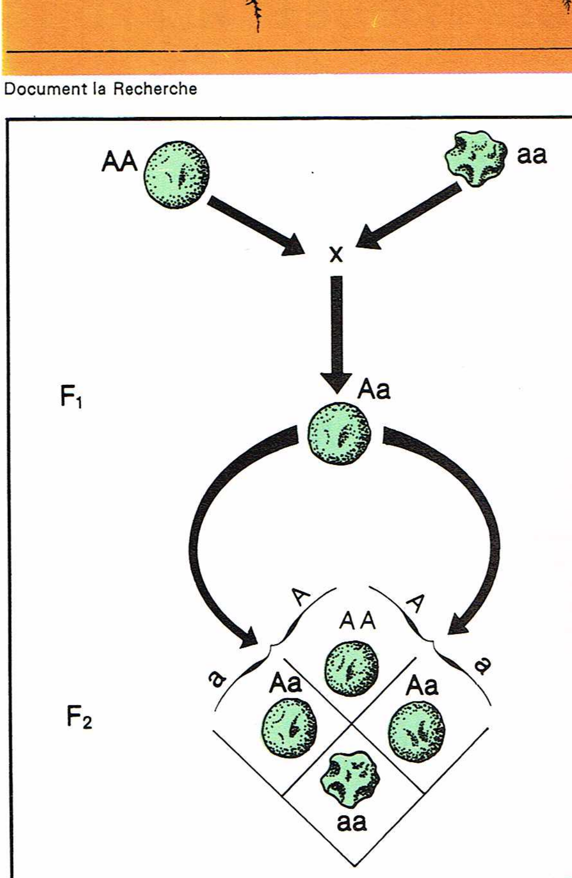
▲ *A gauche, représentation schématique montrant que l'union et la combinaison chromosomiques entre un homme* (homozygote) *à yeux marron et une femme* (homozygote) *à yeux bleus donnent une descendance à yeux marron; le gène présidant à la couleur marron étant dominant sur l'autre,* récessif. *A droite, l'étude simultanée du mode de transmission de ces différents caractères permit à Mendel d'établir que chacun d'entre eux était hérité indépendamment de tous les autres et donc d'énoncer la loi de la* ségrégation indépendante des caractères héréditaires.

▶ *Représentation schématique montrant qu'à la* F_2 *(descendance de l'hybride), les deux formes,* récessive et dominante, *apparaissent dans un rapport de* 1 *à* 3.

Ainsi, à la suite de croisements entre variétés différant par un seul caractère (par exemple, graine ronde et ridée), les hybrides de 1[re] génération, qui constituent la F_1, ressemblent exclusivement à l'un des deux parents (graine ronde). Comme le caractère de l'autre parent (graine ridée) réapparaît dans la descendance de l'hybride, cela signifie qu'il est toujours présent à l'état latent dans la combinaison hybride. Ce caractère est appelé *« récessif »*; par contre, celui qui s'exprime dans l'hybride est dit *« dominant »*. Il est, par ailleurs, indifférent que le caractère dominant appartienne à la plante utilisée comme femelle ou à la plante mâle.

A la génération suivante, qui constitue la F_2 (descendance de l'hybride), les deux formes, récessive et dominante, apparaissent dans un rapport voisin de 1 à 3. Par exemple, dans une expérience portant sur la forme des grains, 253 hybrides ont donné 7 324 graines, parmi lesquelles 5 474 étaient rondes et 1 850 ridées (le rapport est ici 2,96/1). Les formes qui, en F_2, possèdent le caractère récessif ne varient plus lorsqu'on étudie leur descendance par autofécondation. Il en est autrement de celles qui possèdent le caractère dominant. Les 2/3 se comportent comme les hybrides, c'est-à-dire qu'elles donnent des descendants dont les 3/4 portent le caractère dominant et 1/4 le caractère récessif; le caractère dominant ne reste constant que dans 1/3 des cas.

Les descendants des hybrides se subdivisent donc, à chaque génération, en formes hybrides et en formes constantes dans le rapport 2 ; 1 ; 1. Si *A* désigne l'un des deux caractères constants, le dominant par exemple, *a* le caractère récessif et *Aa* la forme hybride dans laquelle ils sont réunis tous deux, l'expression *A* + 2 *Aa* + *a* donne la série des formes pour les descendants des hybrides de chaque couple de caractères différentiels.



Richard Colin

L'utilisation de symboles permet l'élaboration d'hypothèses simples pour expliquer les données : comme l'hybride est capable de former en nombre égal les deux types de formes constantes, *A* et *a*, on peut conclure que les cellules sexuelles des hybrides sont chargées pour moitié du type *A* et pour moitié du type *a*. « Le hasard seul désignera donc celle des deux sortes de pollen qui se lie avec chacune des cellules ovulaires. » Cependant, d'après le calcul des probabilités, il doit toujours arriver, sur un grand nombre de cas, que chacune des formes de pollen *A* et *a* se conjugue un même nombre de fois avec chacune des formes de cellules ovulaires *A* et *a*. Par conséquent, une des deux cellules polliniques *A* rencontrera dans la fécondation une cellule ovulaire *A*, l'autre une cellule ovulaire *a* ; de même, l'une des cellules polliniques *a* sera réunie à une cellule germinative *A*, et l'autre à une cellule germinative *a*.

Le résultat de la fécondation peut donc se représenter sous forme d'une fraction qui rassemble les caractéristiques des cellules ovulaires et polliniques accouplées. Dans la descendance de l'hybride *A/a*, quatre combinaisons sont formées en quantité égale : *A/A*, *A/a*, *a/A* et *a/a*. La première et la dernière correspondent aux parents de race pure. Du fait de la dominance des caractères étudiés, les trois premières apparaissent identiques en ce qui concerne le caractère observable, mais se distinguent par leur descendance.

Le résultat fondamental de ces expériences est que les deux *« facteurs » A* et *a* ne se mélangent pas ; ils restent indépendants et inaltérés, et vont se séparer au moment de la reproduction. Chaque gamète mâle ou femelle en porte un seul, l'un ou l'autre avec une chance égale. Transposé à l'homme, ce résultat signifie que l'hérédité d'un enfant n'est pas un mélange, un amalgame des « sangs » de ses parents. L'hérédité des parents ne fusionne pas dans leurs descendants ; au moment de la formation des gamètes, les facteurs responsables de leurs caractères se dissocient sans avoir été en aucune façon mutuellement influencés par ce séjour d'une génération dans un corps commun.

Les règles simples que nous avons énoncées se retrouvent lorsque les variétés utilisées diffèrent par deux caractères. Les hybrides obtenus en F_1 sont à nouveau tous identiques. Si l'une des plantes parentales ne présente que des caractères dominants, l'hybride ne peut alors en être distingué. Par exemple, dans une expérience de croisement entre un parent présentant des graines de forme ronde à albumen jaune et un parent présentant des graines de forme ridée à albumen vert, on observe la formation de graines toutes rondes et jaunes (en effet, les caractères rond et jaune sont respectivement dominants sur les caractères ridé et vert). Dans une telle expérience, 556 graines ont été obtenues en F_2, parmi lesquelles 315 rondes et jaunes, 101 ridées et jaunes, 108 rondes et vertes, et 32 ridées et vertes (soit un rapport : 9;3;3;1). L'étude des générations suivantes permet d'établir pour chacun des deux caractères l'état pur ou hybride de chacune des graines. Neuf catégories de graines sont ainsi produites dans des proportions telles que les deux caractères se transmettent indépendamment.

L'hérédité est donc *particulaire*. Dans les gamètes, les facteurs héréditaires sont disposés par unités ou par groupes d'unités qui évoluent indépendamment. En 1909, Johannsen suggérera le mot *gène* pour désigner ces unités.

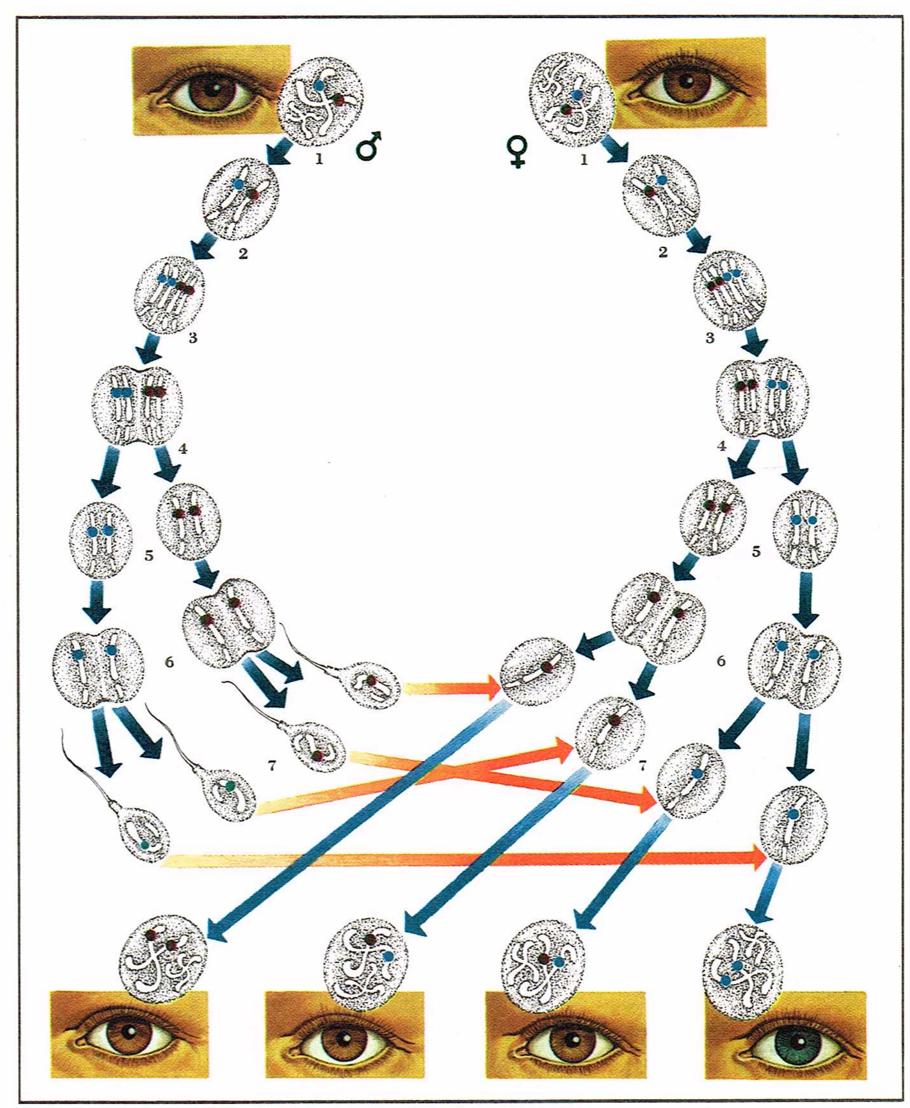
La redécouverte des lois de Mendel

Comme nous l'avons vu dans l'introduction à la biologie, les découvertes de Mendel n'ont suscité en son temps aucune réaction d'intérêt évident. La raison principale en fut vraisemblablement l'absence de connaissances solides sur les mécanismes de la méiose et de la mitose.

Par contre, ces mécanismes et par conséquent le devenir des chromosomes étaient parfaitement bien connus lorsque, en 1900, les botanistes De Vries, Correns, von Tschermak « redécouvrent » les lois de Mendel. En effet, depuis 1879, le processus de scission des chromosomes en deux chromosomes identiques au précédent était observé.

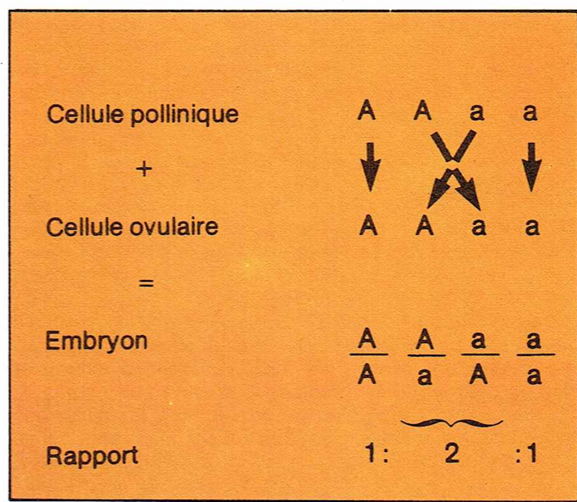
L'analogie qui existe entre le comportement des gènes et celui des chromosomes frappe l'Américain Sutton. Ainsi, en 1903, il postule que les gènes sont localisés sur les chromosomes. Si les gènes déterminant la couleur jaune ou verte des graines du pois sont portés par une paire de chromosomes et si les gènes déterminant leur forme ronde ou ridée sont localisés sur une autre paire de chromosomes, on explique immédiatement la proportion 9 : 3 : 3 : 1 observée dans la descendance des hybrides.

La démonstration de ce qui deviendra la *théorie chromosomique de l'hérédité* sera faite par une équipe de biologistes américains, dont le chef de file sera T. H. Morgan.



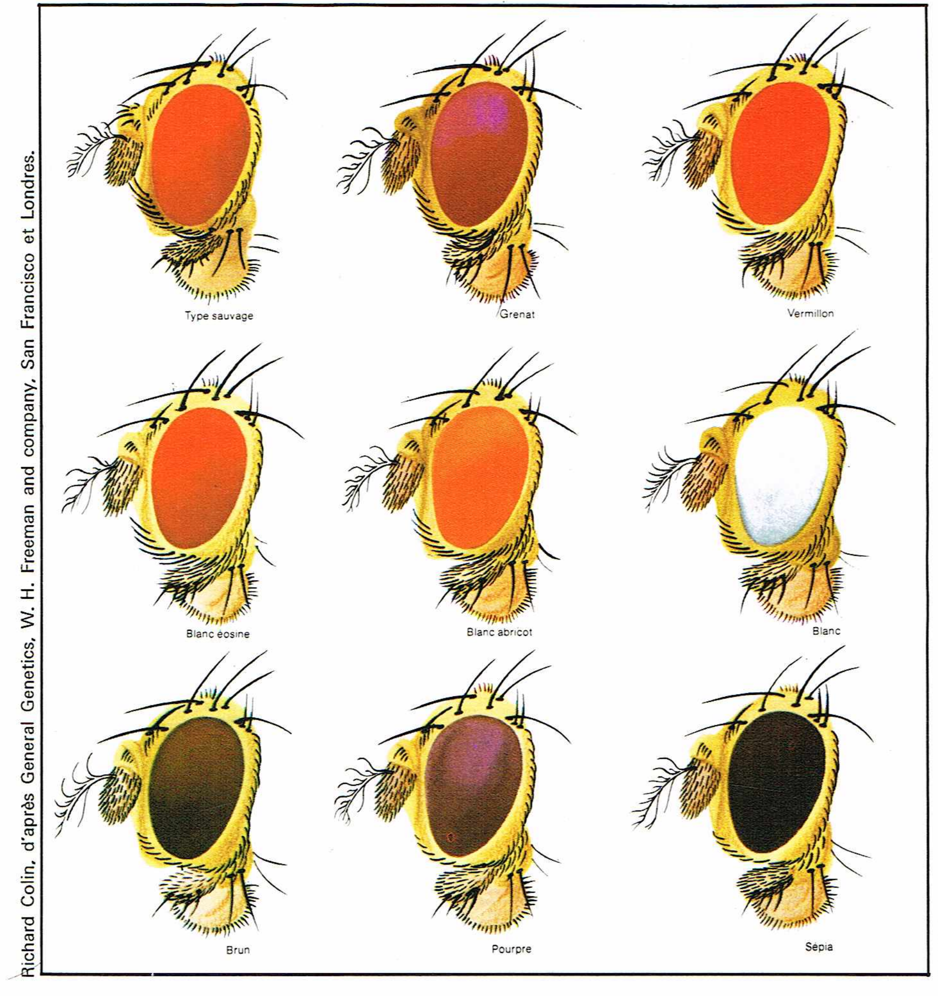
I.G.D.A.

▲ *Représentation schématique montrant que l'union et la combinaison chromosomiques entre parents (hétérozygotes) à yeux marron donnent naissance à une descendance ayant, dans un rapport de 1 à 3, des yeux bleus et des yeux marron (la succession des phases méiotiques est indiquée par les chiffres). Ce phénomène de répartition est dû à la présence chez les deux parents d'un gène (bleu) récessif, qui, ayant rencontré son homologue au niveau des gamètes, a pu se manifester.*

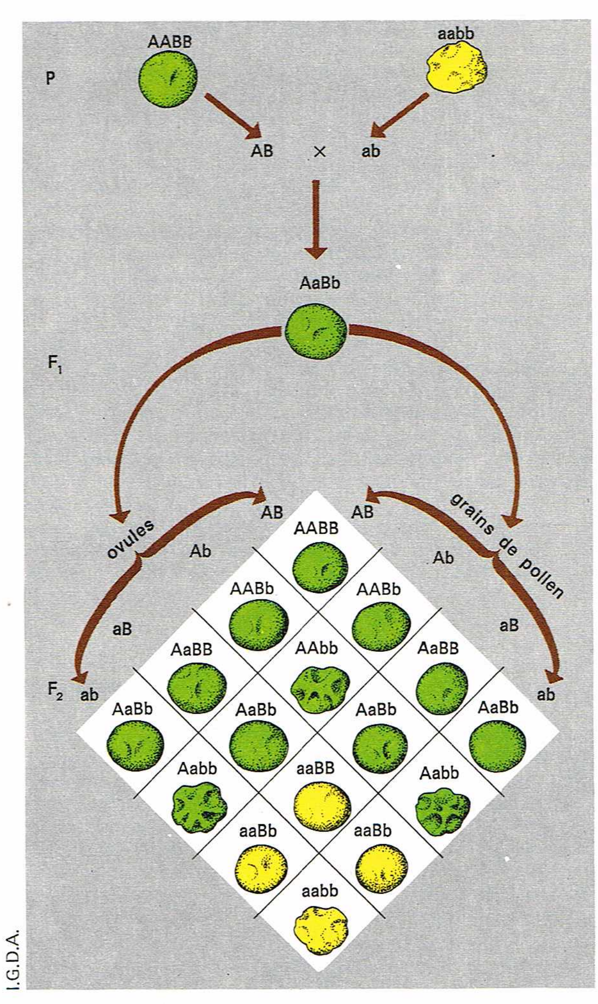


Richard Colin

◀ *Représentation schématique du résultat de la fécondation entre cellules ovulaires et polliniques.*



Richard Colin, d'après General Genetics, W. H. Freeman and company, San Francisco et Londres.



I.G.D.A.

▲ ***A gauche, différentes couleurs d'yeux de* Drosophila melanogaster *: ces diverses formes qui apparaissent brutalement se produisent par* mutation. *A droite, exemple de ségrégation* mendélienne *: le croisement est effectué entre deux grains de pois différant par* deux couples de caractères *: A, vert, a, jaune, B, rond, b, ridé.***

La mutation

Le début du XXe siècle marque une révolution dans la conception de la variation des caractères. Jusqu'à la fin du XIXe siècle, l'idée de variations graduelles des caractères était la seule admise : *« Natura non facit saltus. »* (La nature ne fait pas de saut.) Or, l'observation de populations d'effectif important et descendant de souches pures (Mendel choisissait arbitrairement des variétés de pois achetées chez les sélectionneurs) révèle, au début du XXe siècle, l'apparition d'individus présentant d'emblée et subitement toutes les caractéristiques d'un nouveau type. Ce nouveau type produit ensuite une descendance stable. De Vries écrit : « Les espèces ne se transforment pas graduellement mais restent inaltérées pendant toutes les générations successives. Subitement, elles produisent de nouvelles formes qui diffèrent nettement de leurs parents et qui de suite sont aussi parfaites, aussi constantes, aussi bien définies et aussi pures qu'on peut l'attendre d'une espèce quelconque. »

Ces nouvelles formes qui apparaissent d'un coup se produisent par *mutation*. On peut d'ailleurs provoquer leur apparition. Muller, en 1926, induit des mutations chez la drosophile en irradiant le sperme aux rayons X. Qu'elles soient spontanées ou provoquées, les mutations possèdent les mêmes caractéristiques. Elles sont rares, apparaissent brutalement, et se produisent au hasard, sans « souci » de l'utile et de l'inutile, de ce qu'elles apportent ou de ce qu'elles ôtent à l'organisme qui les exprimera. Il n'y a pas de relation entre leur production et les conditions externes. Les mutations ne sont pas dirigées.

La théorie chromosomique de l'hérédité

Dans l'élevage de drosophiles, Morgan observa l'apparition de centaines de variations héréditaires, affectant la couleur de l'œil, la forme des ailes, etc. C'est l'étude systématique de ces mutations qui amena l'élaboration de la théorie chromosomique de l'hérédité. Le choix de la « mouche du vinaigre » fut particulièrement fructueux : son temps de génération est très court (14 jours), ce qui permet de travailler 25 fois plus vite qu'avec le pois ; sa taille est suffisamment petite pour qu'on manipule des populations dans un espace réduit ; sa fertilité est importante (d'un couple de mouches, plusieurs centaines de descendants peuvent être obtenus en moins de 2 semaines) ; les caractères sont aisés à observer ; enfin, la drosophile ne possède que 4 paires de chromosomes, ce qui permet de les distinguer aisément à l'examen microscopique.

La première observation qui surprit l'équipe de Morgan fut que certains groupes de caractères ont tendance à rester associés dans leur combinaison parentale à travers les générations successives ; ainsi, les individus descendant d'un croisement où les deux parents diffèrent par deux caractères ($Ab \times aB$) [et sont donc de type Ab/aB] ne fournissent pas en égale proportion les quatre types de gamètes *Ab*, *aB*, *AB* et *ab* ; les catégories parentales *Ab* et *aB* sont majoritaires. Morgan et son équipe définissent ainsi quatre « groupes de liaison ». Or, la drosophile possède quatre chromosomes à l'état haploïde ; l'un des groupes de liaison est d'ailleurs associé au sexe de l'animal. Morgan proposa l'hypothèse que les gènes compris dans un même groupe de liaison étaient portés par la même paire de chromosomes. A l'intérieur d'un groupe, la liaison n'est par ailleurs jamais totale. En déterminant les fréquences avec lesquelles les caractères restent associés ou non dans les descendants, on peut disposer les gènes en ordre linéaire comme les perles d'un collier. Le chromosome n'est donc pas un sac de gènes mais plutôt, comme le suggère sa forme filamenteuse, une fibre le long de laquelle les gènes sont disposés linéairement.

La séparation des chromosomes d'une paire au cours de la méiose suffit à expliquer la formation des gamètes recombinés pour des gènes localisés sur des chromosomes différents. Pour des gènes appartenant à un même groupe de liaison, cette formation implique qu'il peut se produire de nouveaux chromosomes dont les différents segments sont d'origine parentale différente. Le

mécanisme qui permet l'échange de gènes entre chromosomes homologues, c'est-à-dire d'une même paire, a été appelé *crossing-over*. Le Danois Janssen en fixa la base cytologique. Au début de la méiose, les chromosomes homologues s'apparient sur toute leur longueur; chaque chromosome est alors clivé en deux chromatides. Si le mécanisme du crossing-over n'est pas encore élucidé aujourd'hui, il est établi qu'un échange se produit entre deux chromatides non sœurs par cassure, puis réunion. C'est par ce processus que sont produites des associations recombinées entre gènes appartenant à un même groupe de liaison. Il a pour conséquence que des gènes situés l'un près de l'autre sur un même chromosome se recombineront beaucoup moins souvent que des gènes éloignés. Ainsi, vers 1920, les généticiens établissent dans des organismes variés l'arrangement spatial des gènes sur les chromosomes, en établissant des *cartes factorielles*.

Le travail de Morgan a donc eu pour effet de concrétiser la notion mendélienne abstraite du gène, qu'il définit ainsi : « Le gène est une certaine quantité de matière dans le chromosome; celle-ci peut se séparer du chromosome dans lequel elle repose et y être remplacée par la partie correspondante (et nulle autre) du chromosome homologue. » En d'autres termes, le gène est un segment de chromosome.

Un gène-une enzyme

La nature de la liaison existant entre le gène et le caractère sera établie grâce à la rencontre de deux sciences, au développement parallèle et jusque-là indépendant : la génétique et la biochimie.

Les réactions chimiques impliquées dans la transformation des molécules décomposant les aliments en éléments essentiels de la construction cellulaire constituent ce qu'on appelle le *métabolisme intermédiaire*. Chaque réaction ne s'accomplit à une vitesse appréciable que grâce à la présence d'une enzyme spécifique qui catalyse la réaction. Les enzymes sont des protéines. Comme nous l'avons vu lors de l'étude de la cellule, l'enzyme est l'unité d'exécution des réactions chimiques de la cellule, le bâtisseur de la structure des êtres vivants. La constitution d'un métabolite essentiel passe par une suite de réactions chimiques, par une chaîne de réactions, dont chaque maillon est sous la dépendance d'une enzyme particulière.

C'est dans des systèmes où la chaîne de réactions qui conduit à l'établissement d'un caractère observable était particulièrement simple que l'idée de la relation « un gène-une enzyme » fut émise et en partie vérifiée. Dès 1909, Garrod émet l'hypothèse qu'une maladie héréditaire altérant le métabolisme d'un amino-acide, la phénylcétonurie, est due à un déficit enzymatique. Cette proposition fut à l'origine de travaux effectués sur les pigments des fleurs, et ceux des yeux des Insectes. Mais les organismes supérieurs se prêtent mal à l'étude biochimique, et il fallut trouver un matériel d'étude plus approprié. Les moisissures et les Levures tout d'abord, puis les Bactéries et les virus furent utilisés.

Les Champignons dont la sexualité était parfaitement connue, tel *Neurospora*, ont ainsi remplacé la drosophile dans de nombreux laboratoires vers les années 1940. *Neurospora*, comme la plupart des micro-organismes, est capable de synthétiser la quasi-totalité des petites molécules organiques, tels les amino-acides, nécessaires à l'édification des macromolécules et, par là, des structures cellulaires. Il est donc possible de les faire croître sur un milieu synthétique ne contenant que quelques éléments simples, appelé *milieu minimal*. Un tel milieu contient une source de carbone comme le glucose qui sert en particulier d'aliment énergétique, une source d'azote, des sels minéraux et parfois aussi quelques vitamines.

Les généticiens isolèrent des *mutants incapables* de pousser sur un milieu minimal qu'ils appelèrent *mutants biochimiques*. La plupart du temps, ces mutants sont *conditionnels* : il suffit d'ajouter au milieu minimal un facteur de croissance, tel un amino-acide, pour qu'ils poussent normalement. Ainsi, on a pu isoler, par exemple, une quinzaine de mutants exigeants en arginine. Les mutants se répartissent en trois classes : ceux qui ne poussent qu'en présence d'arginine, ceux qui poussent en présence d'arginine ou de citrulline, et ceux qui se développent en présence d'arginine, de citrulline ou

phénotype normal		phénotype mutant
arista longue	0	aristaeless (arista courte)
ailes longues	13 — dp	ailes trapues
pattes longues tarse 5 articles	31 — d	dachs (pattes courtes) tarse 4 articles
corps gris	48,5 — b	
yeux rouges	54,5 — pr	yeux pourpres
ailes longues	67 — vg	ailes réduites
ailes droites	75,5 — c	ailes incurvées
ailes droites	99,2 — a	ailes arquées
yeux rouges	104 — bw	yeux bruns

Document la Recherche

◀ **Carte « factorielle »** *des chromosomes de la drosophile (ici un extrait de la carte génétique du chromosome 2, d'après Watson). L'étude des groupes de liaison et le calcul des probabilités de recombinaison ont permis de situer les différents gènes sur leurs chromosomes respectifs.*

d'ornithine (voir schéma p. 234 à gauche). Par ailleurs, chez les mutants appartenant à un groupe donné, le même gène a subi la mutation. Une relation bi-univoque apparaît donc entre le gène et l'étape de biosynthèse. De plus, il est souvent possible d'isoler dans les cellules mutantes la protéine qui ne présente plus l'activité enzymatique, et d'étudier l'altération qui s'y est produite.

Un gène gouverne une réaction chimique parce qu'il détermine les propriétés de la protéine enzyme qui catalyse cette réaction. Le rôle des gènes n'est donc pas limité au simple mécanisme mendélien. C'est toute la chimie de la cellule qui est régie par son hérédité.

Les gènes sont constitués d'ADN

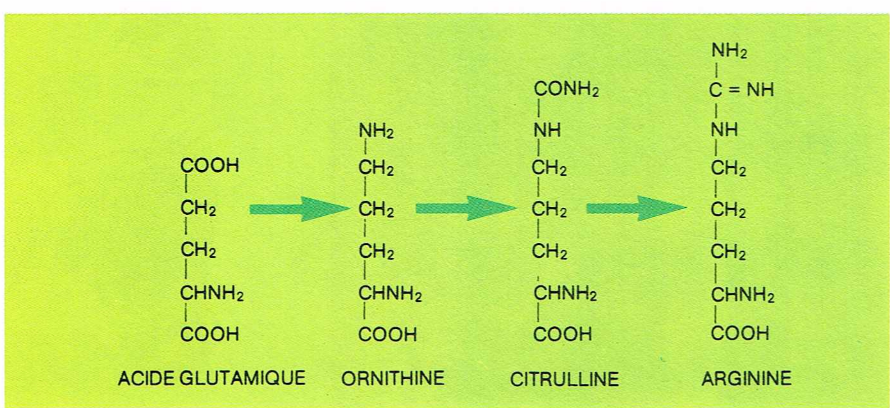
En 1944, lorsque se produisit l'éclatante découverte d'Avery, Mac Leod et Mc Carthy, on connaissait l'existence de deux types de substances dans le noyau des cellules : des protéines et des acides, qualifiés par

▶ *Dès 1947, Chargaff montra que les quatre nucléotides constituant l'ADN n'étaient pas présents en quantités égales et que leur proportion relative variait d'une espèce à l'autre.*

Origine de l'ADN	$\frac{A+T}{G+C}$
Bactéries :	
Pseudomonas aeruginosa	0,51
Escherichia coli	0,97
Bacillus megaterium	1,66
Champignons Ascomycètes :	
Saccharomyces cerevisiae	1,80
Aspergillus niger	1,00
Algues :	
Scenedesmus quadricauda	0,57
Rhabdonema adriaticum	1,71
Graminées :	
Blé	1,22

Origine de l'ADN	$\frac{A+T}{G+C}$
Échinodermes :	
Paracentrotus lividus	1,86
Insectes :	
Locusta migratoria	1,41
Poissons :	
Truite	1,34
Oiseaux :	
Poulet	1,36
Mammifères :	
Homme	1,40
Virus :	
phage T_2	1,84
phage λ	1,06

Richard Colin



Richard Colin

▲ *Étapes de la biosynthèse de l'arginine. L'une ou l'autre de ces étapes ne peut être effectuée par les mutants exigeants en arginine.*

Miescher au siècle précédent de « nucléiques ». Ces acides sont l'ADN et l'ARN. Bien que l'ADN se trouvât exclusivement dans le noyau et que sa structure fût encore mal connue, on ne pensait pas qu'il pût s'agir d'une substance douée de propriétés génétiques. L'ADN est un polymère de haut poids moléculaire composé de quatre sortes de nucléotides : chaque nucléotide est constitué d'un sucre, le désoxyribose, lié à un groupement phosphate, et, selon la nature du nucléotide, à l'une des quatre bases puriques (adénine ou guanine) ou pyrimidiques (thymine ou cytosine). Cette composition lui promettait une structure répétitive, analogue à celle de l'amidon par exemple.

Avery répéta, en les poussant à leur terme, des expériences réalisées en 1926 chez le pneumocoque, Bactérie responsable de la pneumonie : des Bactéries vivantes mais inoffensives, inoculées à une souris en même temps que des Bactéries pathogènes tuées par la chaleur, provoquent une infection mortelle. Le même chercheur remplaça les Bactéries pathogènes tuées par des extraits de leur ADN : les souris ainsi inoculées meurent de pneumonie. Les Bactéries vivantes inoffensives ont acquis la pathogénicité ; elles ont été *transformées*. Si on traite l'ADN extrait par une enzyme qui dégrade spécifiquement l'ADN en nucléotides sans modifier ni l'ARN ni les protéines, on supprime l'activité transformante. Par contre, si on traite l'extrait par des enzymes qui dégradent spécifiquement l'ARN ou les protéines, on ne supprime pas l'activité transformante. Les Bactéries ont donc absorbé des fragments d'ADN qui sont capables de substituer leur activité à celle de l'ADN correspondant présent dans le chromosome bactérien. L'ADN est donc responsable de la continuité génétique de la Bactérie.

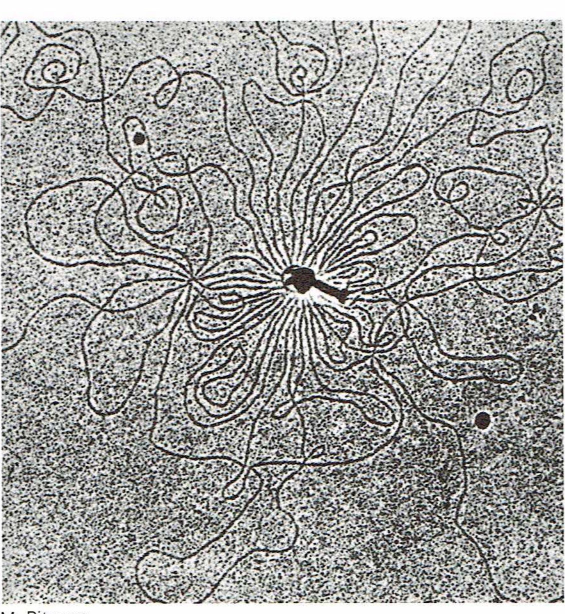
Cette découverte stimula l'étude chimique des acides nucléiques et, très vite, l'idée qu'il y a un arrangement précis des nucléotides à l'intérieur de la molécule et que cet arrangement est en relation avec sa spécificité génétique allait s'imposer. Ainsi, dès 1947, Chargaff montra que les quatre nucléotides constituant l'ADN n'étaient pas présents en quantités égales et que leur proportion relative variait d'une espèce à l'autre. La formidable découverte d'Avery fut confirmée par des expériences de Hershey réalisées, en 1950, sur le bactériophage T_2. Les particules infectieuses de ce virion contiennent de l'ADN recouvert d'une enveloppe protéique protectrice. Après infection de la Bactérie, celle-ci se lyse et libère une centaine de virions. Utilisant les isotopes radio-actifs, Hershey réalisa un marquage différentiel du virion. Après infection puis lyse de la Bactérie, seule la radio-activité des acides nucléiques se retrouva dans les phages descendants.

Ainsi, comme dans le cas de la transformation bactérienne, l'ADN est le seul responsable de la continuité génétique du virus. Il constitue le *matériel génétique*.

La double hélice

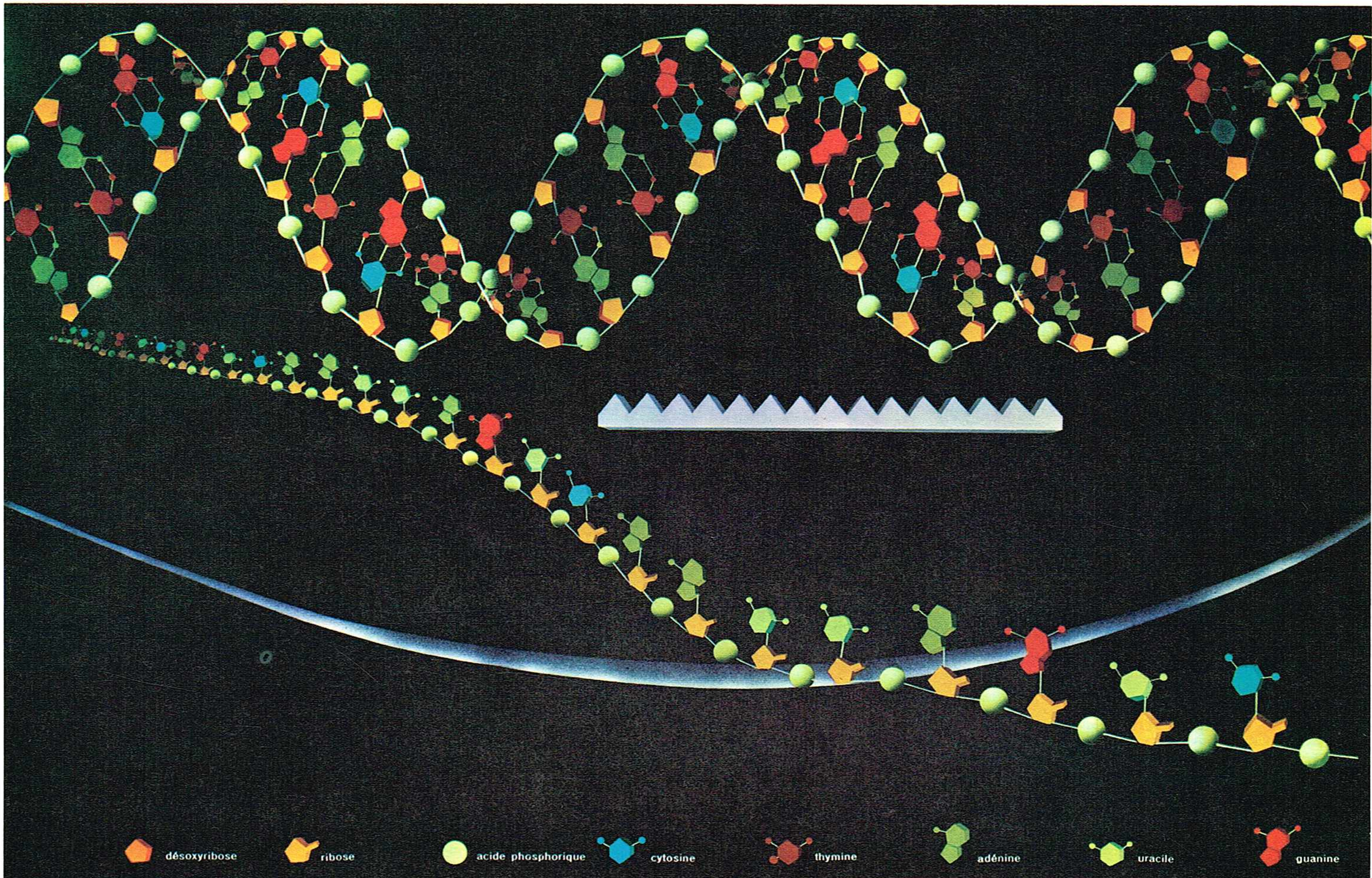
La structure tridimensionnelle de la molécule d'ADN fut découverte, en 1953, par Watson et Crik à partir de l'analyse des diagrammes de diffraction par les rayons X. Ces auteurs s'efforcèrent de trouver la structure stéréochimique la plus compatible avec les données de la diffraction. C'est ainsi que la *structure en double hélice* fut proposée.

La double hélice est constituée de deux chaînes enroulées. Chaque chaîne est un polymère de nucléotides dans lequel les sucres des nucléotides sont liés par des groupements phosphates. Les chaînes constituent le « squelette » de la molécule. Sur ce squelette sont accrochées les bases puriques et pyrimidiques, lesquelles sont disposées dans un ordre très irrégulier et variant d'une molécule à l'autre. Les bases, qui sont des molécules plates et hydrophobes, s'empilent les unes sur les autres à l'intérieur de la molécule, perpendiculairement à l'axe de



M. Pitzurra

▶ *Microphotographie électronique de l'ADN d'un phage T_2.*



Rassegna Medica

▲ *Structure d'une molécule d'ADN (en haut) et d'ARN (en bas).*

l'hélice. Les deux chaînes sont maintenues accolées sur toute leur longueur par des liaisons hydrogène entre les paires de bases. Les bases possèdent entre elles des propriétés d'appariement spécifique : l'adénine s'associe toujours à la thymine et la guanine à la cytosine. Cela entraîne une complémentarité entre les séquences de bases des deux chaînes de la molécule.

La découverte de cette structure fut une révélation. Elle apportait la réponse à la question de l'autoreproduction des gènes. En effet, la nature complémentaire des deux chaînes suggère immédiatement que l'un des brins peut servir de modèle à la constitution de l'autre.

Ainsi, après un siècle de recherches, les bases scientifiques d'une réponse au problème essentiel de la reproduction conforme, qu'avaient tenté de résoudre, de façon naïve, les préformistes, étaient enfin établies. Sur ces bases, allait pouvoir se développer une science neuve, la *génétique moléculaire,* dont nous allons maintenant exposer les développements récents. Ils concernent, d'une part, le processus de transfert de l'information contenue dans les macromolécules et, d'autre part, les mécanismes de régulation de ces transferts.

La génétique des virus et des Bactéries

Gènes et mutations

L'existence de facteurs héréditaires a été postulée depuis longtemps. C'est Mendel qui, on l'a vu précédemment, a commencé le premier à donner une réalité à cette hypothèse. La désignation de ces facteurs par les termes de *gènes,* ou *pangènes,* date des années 1900. Mais, à mesure que les découvertes se succédaient, l'idée de gènes se modifiait dans l'esprit des chercheurs, ainsi que le contenu des concepts afférents à cette notion. Il est donc important d'énoncer clairement les définitions modernes de mots tels que *gène, mutation, allèle, recombinaison,* etc.

Le gène est un segment d'ADN

Sa définition actuelle est une définition fonctionnelle : le gène est un segment d'ADN qui porte l'information nécessaire pour la synthèse d'une chaîne polypeptidique. On voit que cette définition n'a pu être énoncée que récemment, car elle repose sur la connaissance du fonctionnement des mécanismes de transcription et de traduction qui permettent de passer de la structure de l'ADN à celle des protéines. Les gènes sont disposés linéairement sur les chromosomes. L'ensemble des gènes d'une cellule constitue son *génome.*

Les gènes peuvent muter

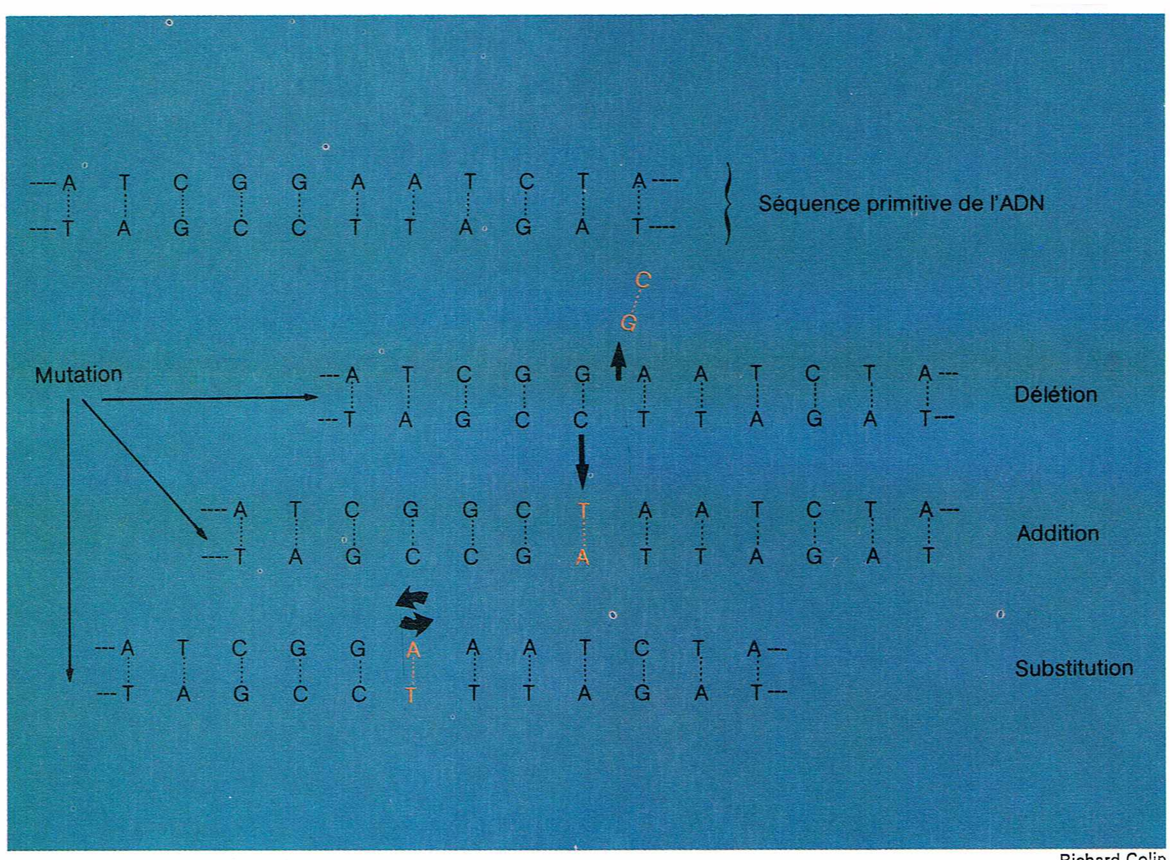
Une *mutation* est un changement irréversible de la structure du segment d'ADN constituant un gène. La mutation apparaît brusquement et est immédiatement stable. Elle peut consister en la perte d'un fragment d'ADN *(délétion),* en l'acquisition d'un morceau supplémentaire *(addition),* ou encore en un remplacement d'une partie de l'ADN par une autre contenant une information génétique différente *(substitution).* La plus petite modification possible est la délétion, l'addition ou la substitution d'une seule base dans la séquence nucléotidique de l'ADN. A l'inverse, la taille d'une mutation peut être très grande. Une délétion, par exemple, peut être plus grande qu'un gène.

On le voit, un gène peut exister sous de nombreuses formes différentes dérivant les unes des autres par le jeu des mutations. Ces différents états constituent des *formes alléliques* du gène ou, plus simplement, des *allèles.* Dans le langage du généticien, on pourra distinguer le ou les *allèles sauvages,* qui sont les formes d'un gène dont le fonctionnement est normal, et les *allèles mutants,* dont le fonctionnement est plus ou moins altéré.

Les enzymes sont « codées » par les gènes

Une fonction cellulaire est très généralement une réaction chimique plus ou moins compliquée qui, pour se dérouler dans des conditions compatibles avec la vie,

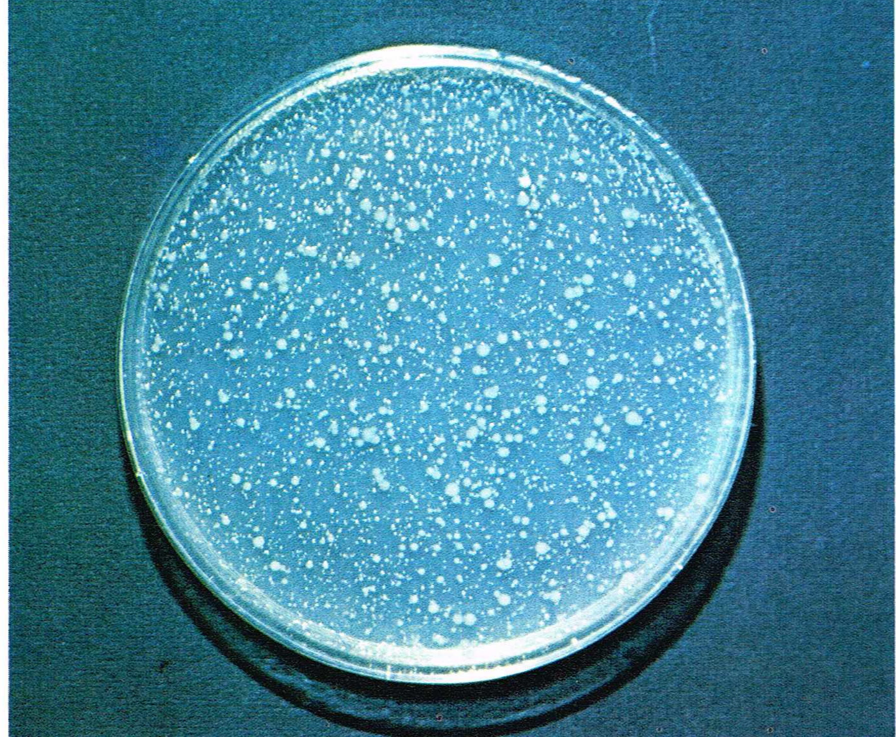
▶ *Représentation schématique des différents types possibles de* **mutations** *au niveau d'une paire de* **nucléotides.**



Richard Colin

nécessite la présence d'une ou de plusieurs enzymes. Ces enzymes sont de nature protéique et leur synthèse est effectuée par les cellules grâce à l'information contenue dans l'ADN, c'est-à-dire dans les gènes. Si l'on désire savoir en quoi une fonction cellulaire est indispensable à la cellule, une méthode que l'on peut employer consiste à supprimer cette fonction ou à l'altérer gravement ; le plus simple est d'utiliser une souche de cellules dont le gène « codant » pour l'enzyme responsable de la fonction que l'on étudie est présent sous une forme allélique mutante inactive.

▼ *Culture de Bactéries en présence d'***antibiotique** *; on observe des* **clones** *de Bactéries résistantes.*



P. Starosta

Les mutations sont rares

Le *taux de mutation* d'une souche pour un gène donné est la fréquence d'apparition d'individus porteurs d'allèles mutants de ce gène par génération. Cette fréquence est très faible : variant selon les organismes et les gènes, elle est généralement comprise entre 10^{-6} (1 pour 1 million) et 10^{-8} (1 pour 100 millions) par génération. Il est presque toujours impossible de tester plusieurs millions ou centaines de millions d'individus pour savoir s'ils sont ou non capables d'effectuer normalement une réaction chimique donnée. Il est donc nécessaire d'employer une méthode expérimentale dans laquelle le rendement est meilleur. Pour cela, on peut jouer principalement sur deux paramètres : la fréquence des mutations et le crible de sélection.

Les agents mutagènes

On sait, depuis les travaux de Muller, en 1926, que l'irradiation par les rayons X provoque l'apparition de mutants avec une haute fréquence. Cela est également vrai pour les rayons ultraviolets et pour les rayons gamma. D'autre part, de nombreuses substances chimiques possèdent aussi la propriété d'augmenter énormément la fréquence des mutations. De tels agents ou substances sont appelés *mutagènes*. Une expérimentation effectuée dans le dessein d'obtenir de nombreux mutants par l'action d'agents mutagènes constitue une *mutagenèse*. En employant des agents mutagènes très actifs et par conséquent très dangereux à manipuler, on peut obtenir une augmentation de la fréquence des mutations d'un facteur 100 ou même 1 000.

Il est très important de noter que, ce faisant, on augmente *globalement* les mutations et non seulement les mutations dans un gène donné. Il reste donc à sélectionner efficacement les mutations que l'on souhaite provoquer.

La sélection des souches mutantes

Cette opération consiste à repérer et à isoler les souches qui effectuent mal ou qui sont incapables d'effectuer une fonction cellulaire donnée. La méthode employée constitue le *crible de sélection*. Notons tout de suite qu'il est indispensable de se placer expérimentalement dans des conditions telles que le mauvais fonctionnement cellulaire des mutants n'entraîne pas la mort de la cellule

ou de l'organisme. Il reste à distinguer les souches mutantes à isoler des souches « sauvages » majoritaires. En effet, à ce stade, on obtient souvent, au mieux, 1 pour 1 000 ou 1 pour 10 000 mutant intéressant. Chaque fois que l'on peut, on tente alors d'enrichir la population de cellules en mutants.

Une des méthodes d'enrichissement les plus efficaces, quand on peut l'employer, consiste à faire agir des antibiotiques comme la pénicilline. Ce type de manipulation marche très bien sur des organismes comme la Bactérie *Escherichia coli*. La pénicilline ne tue les Bactéries que quand elles sont en croissance, alors que celles qui sont au repos ne sont pas affectées. Il suffit donc de placer la population de Bactéries contenant des mutants dans des conditions où les mutants ne peuvent pas se développer et où les Bactéries « sauvages » vont pousser. Le résultat est que seuls les mutants restent vivants, alors que les autres sont tués par l'antibiotique. Il suffit ensuite de transférer la population de Bactéries dans des conditions où les mutants peuvent se développer et en l'absence d'antibiotique, par exemple, dans un milieu de culture où l'on a ajouté la substance que les mutants sont incapables de synthétiser.

L'expérimentation terminée, il ne reste plus, théoriquement, que les souches mutantes recherchées. Pratiquement, les méthodes d'enrichissement ne sont jamais efficaces à 100 % : on obtient, en général, un enrichissement relatif. Les cribles de sélection ne sont malheureusement pas tous aussi simples et sont parfois beaucoup moins efficaces. On est même souvent réduit à s'en passer purement et simplement et à s'armer de patience.

Le génome

Il est constitué par l'ensemble des gènes d'une cellule ou, par extension, d'un individu.

Le génotype

C'est l'ensemble de l'information génétique d'une cellule, c'est-à-dire de ses gènes, compte tenu de la forme allélique sous laquelle ils se présentent. Usuellement, cette définition est trop large et le *génotype* désigne couramment l'inventaire des gènes *impliqués* dans un croisement ou une expérience, en tenant toujours compte de leur forme allélique.

Le phénotype

C'est l'ensemble des *caractères* d'une cellule ou d'un individu. Il correspond à l'*expression* du génotype de la cellule ou de l'individu, dans un contexte donné.

Pendant la phase haploïde du cycle d'un organisme, chaque gène est présent à un seul exemplaire par cellule. La présence d'un allèle mutant dans son stock génétique se traduit alors par la perte ou l'altération d'une fonction au niveau cellulaire. Cet organisme présente alors un aspect (pigmentation, taille, etc.) ou un comportement (vitesse de croissance, etc.) différent de celui de la souche portant l'allèle « sauvage ». Il y a une correspondance entre le génotype et le phénotype. On aura un phénotype « sauvage », que l'on symbolise fréquemment par [+], et un ou des phénotypes mutants.

Si le phénotype d'un organisme haploïde est en relation directe avec son génotype (schématiquement : génotype mutant → phénotype mutant), cela n'est plus vrai dans une cellule diploïde, où chaque gène est présent en deux exemplaires. Considérons un gène donné appelé arbitrairement gène A. Il peut se présenter sous la forme « sauvage » a^+ ou sous une forme allélique mutante a^-. Pour un organisme haploïde, au génotype a^+ correspond le phénotype [a+], et au génotype a^- correspond le phénotype [a−]. Le cas d'un organisme diploïde est moins simple car, pour un gène pouvant être présent sous deux formes alléliques, il existe trois combinaisons génotypiques possibles : a^+/a^+, a^-/a^- et a^+/a^-. Dans une cellule diploïde, il est en effet possible d'avoir deux allèles différents d'un même gène dans la même cellule. Cet état est appelé *hétérozygotie*. A l'inverse, la cellule peut être *homozygote*, c'est-à-dire que les deux gènes A qu'elle contient sont tous les deux soit a^+, soit a^-. Le phénotype d'un individu hétérozygote a^+/a^- dépend des relations qui s'établissent entre les deux allèles en présence dans un contexte donné. La figure ci-après schématise les relations entre phénotype et génotype dans une cellule diploïde. Le point d'interrogation de la figure signifie que pour une cellule de génotype a^+/a^- il existe plusieurs phénotypes possibles :

— phénotype [a+] : on dit alors que l'allèle a^+ s'exprime, alors que l'allèle a^- ne s'exprime pas, ou encore que a^+ est dominant sur a^-, et que a^- est récessif par rapport à a^+;

— phénotype [a−] : c'est le cas inverse : l'allèle a^- est dominant et l'allèle a^+ est récessif.

— phénotype autre que [a+] ou [a−] : il peut être intermédiaire entre les deux phénotypes, présentant des caractères dus à l'allèle a^+ et d'autres dus à a^-. Dans ce cas, on dit que les deux allèles en présence sont *semi-dominants*.

Le cas rencontré le plus fréquemment est celui où l'allèle « sauvage » [+] est dominant et les allèles mutants sont récessifs ; cependant, la situation inverse se produit aussi.

Génotype	Phénotype	
$\frac{A}{A}$	[A]	Homozygote A
$\frac{a}{a}$	[a]	Homozygote a
$\frac{A}{a}$	[?]	Hétérozygote

Richard Colin

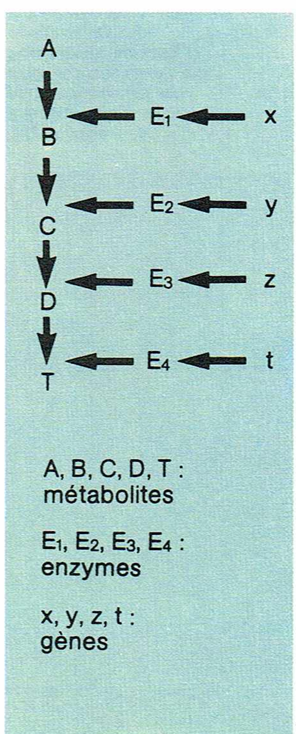
◀ ***Représentation schématique des relations entre le* génotype *et le* phénotype *dans un organisme* diploïde.**

La relation entre le génotype et le phénotype n'est pas bi-univoque

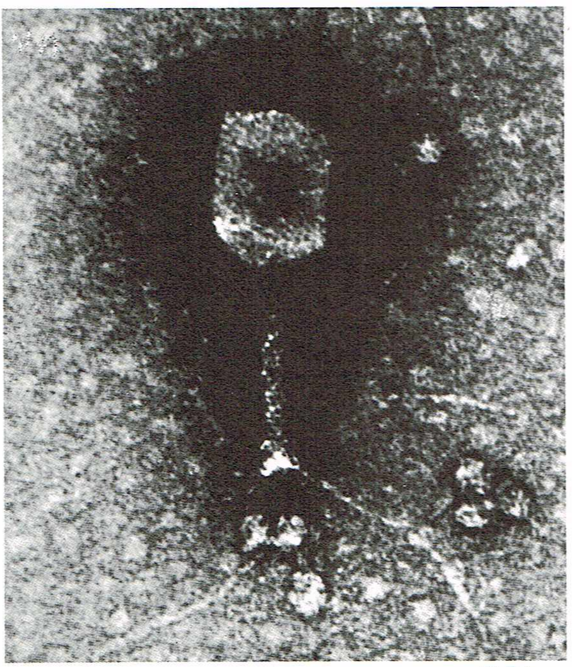
On a vu que cette relation est simple dans une cellule ou un organisme haploïde. Elle est souvent ambiguë dans les cellules diploïdes hétérozygotes. Il y a un autre facteur qui rend cette relation encore moins claire : c'est le fait que des mutations se produisant dans des gènes différents (non allèles) peuvent aboutir à des phénotypes analogues.

Prenons l'exemple de la synthèse d'un acide aminé, le tryptophane, par la souche [+] de la Bactérie *Escherichia coli*. Cette synthèse est complexe et s'effectue en plusieurs étapes successives que l'on peut schématiser comme suit : A → B → C → D → tryptophane. Chaque transformation (A → B, B → C, C → D, D → tryptophane) est une réaction chimique catalysée par une enzyme et, par conséquent, contrôlée par le gène qui permet la synthèse de cette enzyme. Ces gènes portent l'information qui code pour la structure de l'enzyme et sont souvent appelés, par contraction, *gènes de structure* des enzymes. La figure en marge schématise le contrôle génétique de la chaîne de biosynthèse du tryptophane. La Bactérie *E. coli* est haploïde ; son génome comporte donc un seul exemplaire de chacun des gènes de structure des enzymes nécessaires à la synthèse du tryptophane. Si l'un d'eux, le gène x par exemple, est présent sous une forme mutante inactive x^-, la Bactérie ne possédera pas l'enzyme E_1, ou la possédera sous une forme gravement altérée, de telle sorte que la cellule ne sera pas capable d'effectuer la réaction A → B. S'il en est ainsi, le produit intermédiaire de la synthèse B sera absent et ne pourra être transformé en C, bien que l'enzyme responsable de cette réaction soit présente, et ainsi de suite. Le résultat final sera une Bactérie incapable de synthétiser le tryptophane et dont le phénotype sera écrit [*tryp*−]. Ce raisonnement est valable pour toute mutation se produisant dans un quelconque des gènes x, y, z ou t. En effet toutes ces mutations aboutissent au même phénotype, c'est-à-dire à des souches mutantes incapables de synthétiser le tryptophane. Comme cet acide aminé est indispensable, car il entre dans la composition de très nombreuses protéines, les Bactéries [tryp−] sont incapables de pousser, sauf dans un cas : si on leur fournit du tryptophane tout fait dans le milieu de culture (les souches [tryp−] sont aussi appelées *tryptophane-exigeantes*).

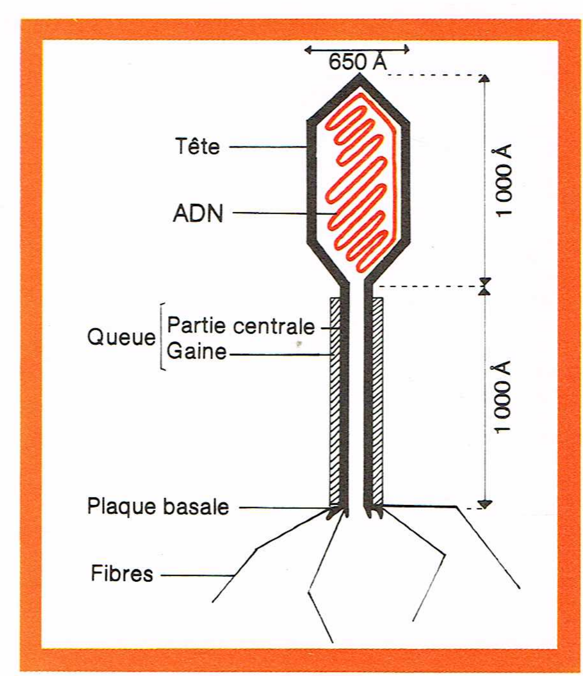
▼ ***Représentation schématique du contrôle génétique d'une chaîne de biosynthèse.***



▶ *A gauche,* **bactériophage T_4 :** *virus à symétrie binaire; à droite, sa représentation schématique (d'après W. Hayes).*



M. Pitzurra



Richard Colin

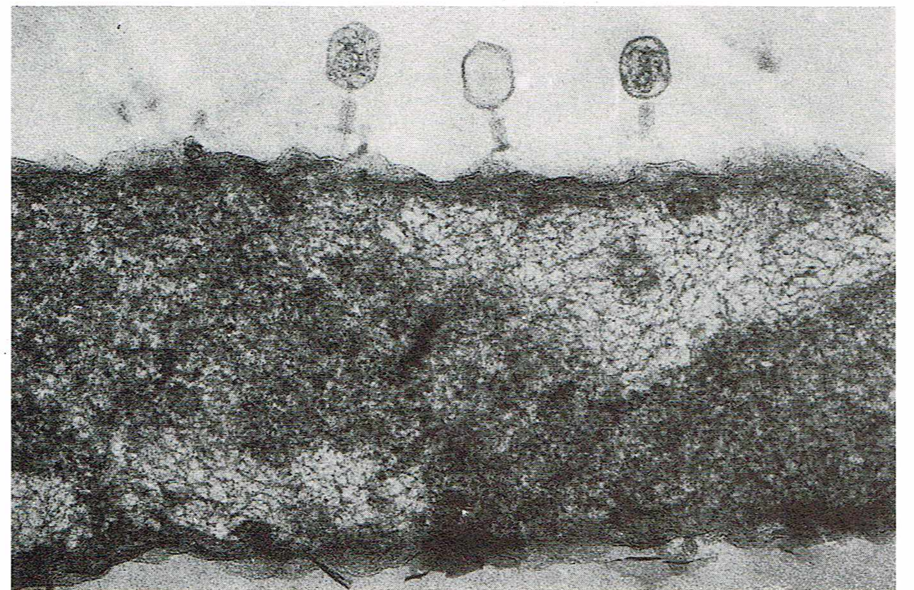
Les ambiguïtés de ce type qui existent dans les relations entre génotype et phénotype peuvent être levées par une analyse génétique plus poussée. Il faut faire appel à l'étude des relations de *complémentation* et de *recombinaison* entre les différentes souches mutantes du même phénotype. Pour cela, il faut pouvoir croiser entre elles les différentes souches et étudier les résultats du croisement.

Les modalités du cycle de reproduction et le mode de croisement variant avec les organismes, il est nécessaire d'étudier comment se pratique une analyse génétique et quelles sont les modalités de la reproduction sexuée dans les différents grands groupes systématiques du règne vivant.

La génétique des virus

Les virus sont les organismes vivants les plus simples que l'on connaisse. En schématisant un peu, on dira qu'ils sont constitués de deux parties : d'une part, une enveloppe de nature protéique et, d'autre part, un chromosome constitué d'un acide nucléique, ADN ou ARN, selon les cas. Le tableau page 239 symbolise l'infection d'*E. coli* par un virus, le **bactériophage T_4** (ou **phage T_4**). La capsule (enveloppe) protéique de ce virus renferme le chromosome. Le génome du phage T_4 est une double hélice d'ADN refermée sur elle-même en un cercle. Le virus à l'état libre n'est constitué que de celle-ci. Sous cette forme, il n'a rien de vivant : on n'observe ni activité métabolique (pas de respiration, pas de synthèses), ni multiplication, ni reproduction. Mais cette particule inerte peut infecter la Bactérie *E. coli,* en se fixant à la surface de la cellule bactérienne et en lui injectant son chromosome. Cela détermine, à l'intérieur de la Bactérie, la multiplication et la maturation de plusieurs centaines de nouveaux phages qui, à la fin du cycle de multiplication, sont libérés dans le milieu extérieur par la lyse de la Bactérie.

▼ *Microscopie électronique de* **phages T_2** *adsorbés à la surface* **d'Escherichia coli ;** *on remarquera que le phage central a déjà inoculé son ADN.*



Institut Pasteur

Pour manipuler ces minuscules organismes, visibles seulement au microscope électronique, on opère souvent avec des boîtes de Pétri contenant un milieu nutritif solidifié par l'addition d'agar-agar. Ce milieu est ensemencé avec une suspension de Bactéries dont la concentration est telle qu'au bout de quelques générations cellulaires il se forme un « tapis » bactérien, très reconnaissable car il opacifie superficiellement le milieu de culture. On étale sur cette culture une suspension virale. Les virus vont infecter les Bactéries et s'y multiplier pour donner des centaines de descendants, qui seront libérés par la lyse des Bactéries en un temps très court (de 15 à 60 minutes). Chaque nouveau virus peut infecter une Bactérie et s'y multiplier à son tour. Après un certain nombre de cycles infectieux, toutes les Bactéries proches du virus initial sont lysées. Il y a donc formation de zones de lyse qui apparaissent comme des trous dans le tapis bactérien opaque (plages de lyse).

On peut se servir de cette méthode pour connaître la concentration en phages d'une suspension; il est nécessaire de pouvoir compter le nombre de plages de lyse qui résultent de l'étalement d'un volume connu de la suspension sur un tapis bactérien. Pour ce faire, on est obligé d'immobiliser les phages et les Bactéries sur la boîte ou, du moins, de freiner fortement leur diffusion. A cette fin, on n'ensemense pas directement la ou les boîtes par les Bactéries d'une part et par une suspension virale d'autre part. Mais, on prépare un mélange d'un grand nombre de Bactéries sensibles au phage et d'un petit nombre de particules virales, dans un petit volume de gélose (agar-agar) maintenu en surfusion (46 °C). On répand ensuite ce mélange sur les boîtes de culture, que l'on met à incuber à la température normale de culture (37 °C). A cette température, la gélose se solidifie et freine la diffusion des phages et des Bactéries, ce qui permet d'obtenir des plages de lyse bien délimitées et rend possible une interprétation quantitative des résultats. Si les concentrations respectives en virus et en Bactéries ont été bien choisies, on peut alors déterminer le nombre de particules formant plage qui existaient à l'origine dans la suspension virale.

Les virus peuvent muter

Il existe des mutants, dits [rII], dont le phénotype est un cycle de lyse plus rapide que celui du type « sauvage » ; c'est-à-dire qu'au bout d'un même temps, les plages dues à un mutant [rII] sont plus grandes que celles dues à un phage [rII+]. Les virus *rII* et *rII*+ sont tous deux capables d'infecter des Bactéries *E. coli* de la souche B. Par contre, seuls les phages *rII*+ peuvent se multiplier sur les Bactéries de la souche K_{12}. Notons, pour la suite, le génotype de la souche « sauvage » *rII*+ et les génotypes des différentes souches mutantes rII_1, rII_2, rII_3, ..., rII_x.

On possède plusieurs milliers de souches mutantes [rII], obtenues indépendamment, soit spontanément, soit au cours de mutagenèses. La première chose à faire est d'observer la descendance d'un virus mutant nouvellement isolé et dont on ne sait qu'une chose : il présente le phénotype rII. Le principe de cette expérience peut se résumer de la façon suivante : on prépare un tube à essais contenant du milieu nutritif liquide où l'on a mis à incuber des Bactéries sensibles (*E. coli* B). On ajoute alors un petit volume d'une suspension contenant les phages à étudier. Les virus infectent les Bactéries et s'y multiplient. Après un court laps de temps (de 15 à 60 mn, selon les conditions expérimentales), les Bactéries infectées se lysent et libèrent les virus descendants. Pour disposer d'une suspension qui ne contienne que des phages, on ajoute quelques gouttes de chloroforme (corps qui a la propriété de lyser les Bactéries et d'être sans action sur les particules virales libres). On peut alors tester la récolte de phages en l'étalant sur des boîtes de Pétri avec des Bactéries indicatrices des souches B et K_{12}. L'absence de plages de lyse sur Bactéries K_{12} montre que les phages sont bien mutants (seuls les virus *rII*+ s'y multiplient). Les plages formées sur Bactéries B permettent de quantifier la récolte et de vérifier qu'il s'agit bien de mutants [*rII*] (grandes plages).

On observe donc ce que l'on s'attendait à trouver : la descendance d'un mutant [rII_x] est constituée de virus du même type. Mais on remarque en outre que, dans la plupart des cas, il apparaît aussi des phages capables de se multiplier sur Bactéries de souche K_{12}, c'est-à-dire des virus ayant le phénotype [rII+]. Le nouveau type se révèle stable et héréditaire, et on peut dire que le processus qui a conduit à l'apparition d'un individu de phénotype « sauvage » à partir d'une population de mutants correspond à la définition qu'on a donnée précédemment d'une mutation. On désigne les mutations qui permettent la restauration du phénotype « sauvage » à partir d'une souche mutante par le terme général de *réversions*.

Les réversions

Il existe, en fait, plusieurs types de mutations qui peuvent permettre l'apparition de souches *révertantes*. En effet, l'analyse de nombreux révertants a montré qu'une partie seulement d'entre eux avaient un *génotype* « sauvage ».



P. Starosta

▲ *Culture de Bactéries en présence de bactériophages ; on observe des plages de lyse.*

Souche d'E. coli \ Souche de T_4	rII^+ ("sauvage")	rII_1 ...... rII_x (mutants)
B	+ (pp)	+ (Gp)
K	+ (pp)	–

Richard Colin

◀ *Infection des souches B et K d'E. coli par le virus T_4. Le signe + symbolise une récolte de virus, le signe — représente une absence de récolte ; pp, petites plages de lyse ; Gp, grandes plages de lyse.*

— La réversion peut rétablir, au niveau de l'ADN, la séquence nucléotidique du type « sauvage ». Le révertant possède alors un génotype « sauvage ». Ce type de réversion est appelé *mutation réverse (back-mutation)*.

— Il peut aussi s'agir d'une seconde mutation, qui laisse intacte la première mais qui, par le jeu du métabolisme cellulaire, rétablit le phénotype « sauvage », alors que le génotype reste mutant, et même doublement

Institut Pasteur



◀ **Lecteur de culture** *permettant d'interpréter quantitativement l'obtention des plages de lyse.*

mutant. On dit que la deuxième mutation *supprime* l'effet de la première et, de ce fait, on la désigne par le terme de *suppresseur*.

En règle générale, les fréquences de réversion sont très faibles, du même ordre que les fréquences de mutation ou plus petites. D'autre part, en comparant les fréquences de réversion d'un certain nombre de mutations, on a pu établir que certaines réversaient relativement plus fréquemment que d'autres. Il est possible d'expliquer ce phénomène en postulant que plus la taille d'une mutation est petite, plus la mutation réverse est facile à obtenir. En effet, on conçoit bien que, si une mutation consiste en un changement au niveau d'un seul nucléotide de l'ADN, il est facile de rétablir la séquence de bases primitive. Par contre, si la mutation de départ consiste en une grande délétion impliquant plusieurs dizaines ou centaines de nucléotides, il est évident que la restauration de la séquence complète de l'ADN est un événement hautement improbable.

Les virus peuvent se croiser

Il est possible de faire varier les conditions de telle sorte qu'une même Bactérie soit infectée en moyenne *par un seul* ou *par plusieurs virus;* il suffit de jouer sur les concentrations relatives des Bactéries et des virus *(multiplicité d'infection)*. Il est donc possible de réaliser des *infections mixtes*, dans lesquelles une Bactérie est infectée par deux phages provenant de deux souches différentes, et d'observer la récolte ainsi obtenue. Il s'agit, on le voit, d'un système expérimental très simple et très facile à utiliser.

D'un point de vue génétique, une infection mixte d'une Bactérie par deux virus de souches différentes constitue bien ce qu'on peut appeler un *croisement*, par analogie avec le phénomène désigné par ce terme chez les organismes supérieurs. En effet, il y a réunion dans un même cytoplasme (celui de la Bactérie infectée) du matériel génétique provenant de deux parents distincts (qui peuvent être de génotype différent), puis génération de descendants chez lesquels on peut observer la transmission des caractères des parents. L'infection mixte d'une Bactérie par deux mutants du système rII peut être symbolisée comme un croisement : $rII_x \times rII_y$.

L'analyse génétique chez les virus

Faisons le point de la situation. Nous sommes en présence d'un grand nombre de souches mutantes rII_1, rII_2, etc., présentant des phénotypes analogues. On vient de voir qu'il était possible de réaliser des croisements entre les différentes souches. Il est donc possible d'analyser génétiquement le système rII; cette analyse doit permettre de répondre clairement à plusieurs questions.

— De combien de gènes se compose le système rII?
— Comment sont-ils disposés les uns par rapport aux autres?
— Combien y a-t-il de sites mutants?
— Comment sont-ils disposés à l'intérieur des gènes?

La méthodologie génétique est du type analytique : elle tend à « disséquer » un problème pour le séparer en ses composants les plus petits possibles, à résoudre séparément chacune des parties, puis à effectuer la synthèse de toutes les données pour expliquer l'ensemble, dans tous ces aspects.

Dans le cas des mutants rII, comment procéder pour répondre à la première question, c'est-à-dire comment déterminer le nombre de gènes dont se compose le système rII? La méthode va consister à prendre les différents mutants *deux à deux* et, pour chaque couple de souches, à effectuer une expérience destinée à montrer si les deux mutations sont dans le même gène ou dans des gènes différents. Cela revient à savoir si les deux gènes mutants que l'on met en présence sont allèles ou non. Ce type d'expérience s'appelle un *test fonctionnel d'allélisme* ou encore *test de complémentation*.

Allélisme et complémentation

Le principe du test de complémentation consiste à réunir *dans un même cytoplasme* les génomes de deux mutants différents. Si chacune des deux souches ne possède qu'un seul gène mutant, il n'y a que deux situations possibles :

— *Les mutations sont situées dans des gènes différents.*

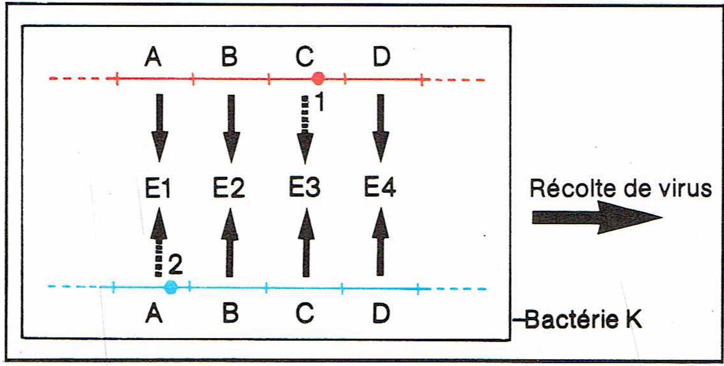
Une Bactérie est infectée par deux virus; le génome du premier contient le gène C sous une forme mutante, et le génome du second contient le gène A sous une forme mutante. En d'autres termes, le premier génome ne pourra pas assurer la fonction cellulaire contrôlée par le gène C, et le deuxième celle contrôlée par le gène A. Cependant, si les deux génomes sont dans le même cytoplasme, ce qui est le cas lors d'une infection mixte, le gène A, intact, du premier virus peut suppléer à la déficience du second et le gène C, intact, du deuxième peut suppléer à la déficience du premier. Le stock enzymatique contenu dans le cytoplasme de la Bactérie est complet : il contient aussi bien l'enzyme E_1 (qui dépend du gène A) que l'enzyme E_3 (qui dépend du gène C). Le résultat final est que l'ensemble des fonctions cellulaires est assuré. On dit alors que les deux souches mutantes se *complémentent*. S'il s'agit de mutants [rII], on effectue des infections mixtes sur des Bactéries de la souche K_{12}, sur lesquelles aucun des mutants n'est capable de se développer. Si les mutants présentent de la complémentation, une infection mixte donnera lieu à une récolte. Il est possible de vérifier que cette récolte résulte bien d'une complémentation (et non d'une réversion). Pour cela, on prend les phages de la récolte et on regarde s'ils sont toujours mutants en s'en servant pour infecter des Bactéries K_{12}. On effectue l'infection avec une multiplicité d'infection telle qu'une Bactérie soit infectée par un seul phage, pour éviter des récoltes dues à la complémentation. On observe alors que les phages sont toujours mutants car ils ne sont pas virulents vis-à-vis des Bactéries K_{12}. On constate cependant, avec une très faible fréquence, l'apparition de quelques phages [rII^+]. Nous verrons plus loin l'explication de ce phénomène.

— *Les mutations sont situées dans le même gène.*

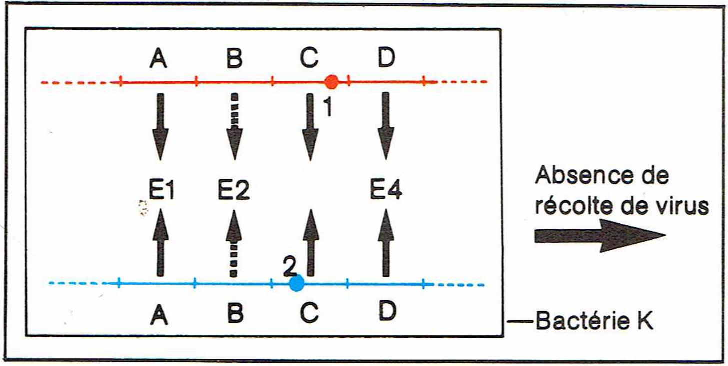
Dans une Bactérie infectée par deux virus, tous deux mutants pour le gène C, la fonction cellulaire contrôlée par ce gène ne peut être assurée par aucun des deux génomes en présence. Il n'y aura pas de complémentation. En règle générale, on peut dire qu'il n'y a pas de complémentation entre deux gènes allèles. S'il s'agit de mutants [rII] du même gène, on n'obtiendra pas de récolte de virus lors d'infections mixtes de Bactéries K_{12}.

Les raisonnements ci-dessus sont réversibles : il suffit, dans la plupart des cas, d'observer de la complémentation entre deux mutants pour conclure qu'ils sont situés dans deux gènes différents. De même, une absence de complémentation entre deux mutants est un bon argument en faveur de leur allélisme.

▼ ***Principe du test de complémentation : à gauche, les mutations 1 et 2 sont situées dans des gènes différents (il y a complémentation); à droite, les mutations 1 et 2 sont situées dans le même gène (il n'y aura pas de complémentation).***



Richard Colin



Richard Colin

Gènes et groupes de complémentation

Si l'on effectue les tests de complémentation en prenant tous les mutants rII deux à deux, on va définir des *groupes de complémentation*. Ce sont des ensembles de mutants qui, premièrement, ne complémentent pas entre eux, et, deuxièmement, complémentent avec tous les autres. Le nombre de groupes de complémentation que l'on peut caractériser de cette manière correspond au nombre de fonctions cellulaires que contrôle le système, c'est-à-dire au nombre de gènes dont il se compose.

Dans le cas du système rII, on montre qu'il se compose de deux groupes de complémentation. Ceux-ci correspondent à deux gènes que l'on appelle rIIA et rIIB.

La recombinaison

Nous avons vu que, lors de l'infection mixte d'une Bactérie par deux mutants différents, rII_1 et rII_2, on récoltait une grande majorité de virus mutants identiques aux virus parentaux, mais nous avons signalé qu'il apparaissait aussi, avec une faible fréquence, des phages rII^+. On peut imaginer que ceux-ci proviennent de réversions. Toutefois, on constate aussi que la fréquence d'apparition de virus rII^+ au cours d'une infection mixte (croisement) $rII_1 \times rII_2$ est bien supérieure aux fréquences de réversion de rII_1 ou de rII_2. La figure ci-dessus montre que pour obtenir un génome « sauvage » à partir de deux génomes mutants rII_1 (mutant pour le gène rIIA) et rII_2 (mutant pour le gène rIIB), il faut un réarrangement des gènes apportés par chacun des parents. Le résultat à obtenir est un chromosome portant, sur la même molécule d'ADN, le gène rIIA du mutant rII_2 et le gène rIIB du mutant rII_1, c'est-à-dire un génotype rII^+. Le phénomène qui aboutit à l'apparition, dans la descendance d'un croisement, de combinaisons génotypiques différentes de celles des parents s'appelle une *recombinaison*. Le mécanisme responsable d'échanges entre chromosomes aboutissant à la formation de génomes *recombinés* est appelé *crossing-over*.

On remarquera que, par recombinaison, il est possible d'obtenir autre chose qu'un génome rII^+ ; c'est un virus dont le chromosome portera deux mutations : le gène rIIA du mutant rII_1 et le gène rIIB du mutant rII_2. On aura alors un phage recombinant *double-mutant :* $rII_{1,2}$. Il est possible de vérifier que l'on obtient effectivement de tels recombinants : les doubles mutants rII_1, ; ne peuvent se complémenter avec aucun des deux parents rII_1 ou rII_2.

Lorsqu'on effectue des croisements du type $rII_y \times rII_z$, on trouve dans la descendance les deux *types parentaux* (rII_y et rII_z) et les deux *types recombinés*.

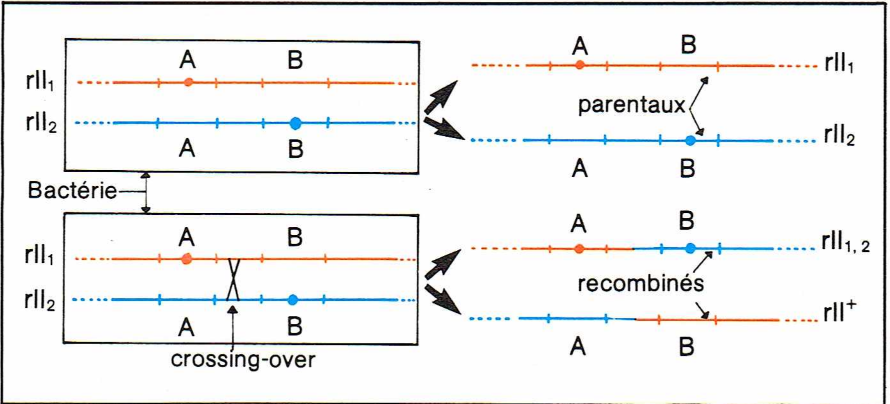
On peut donc mettre en évidence chez le bactériophage T_4 un phénomène de *recombinaison génétique*. Cela signifie que l'on peut parler de croisement génétique et de sexualité, par analogie avec les phénomènes que l'on connaît chez les organismes supérieurs. On peut considérer, en effet, que lors d'une infection mixte il y a des parents et des descendants, et qu'il s'agit bien d'un cycle de reproduction.

La recombinaison intragénique

Que va-t-il se passer si l'on effectue un croisement entre deux mutants d'un même gène ? D'abord, comme ces mutants ne se complémentent pas, pour obtenir une descendance, l'infection mixte doit être pratiquée sur des Bactéries de la souche B (sensibles aux mutants rII). La détection des phages recombinés rII^+ s'effectue simplement en étalant la récolte sur des Bactéries de la souche K_{12}, sur lesquelles seuls les virus rII^+ sont capables de se multiplier. Ce type d'expérience est appelé *croisement intragénique* ou *croisement interallélique*. Ces deux expressions sont synonymes car on peut considérer que les deux mutations sont dans le même gène ou que les deux gènes mutants sont allèles.

Dans un grand nombre de croisements de ce type, on observe effectivement l'apparition de virus recombinés. Leur fréquence est, en général, beaucoup plus faible que dans un croisement *intergénique* (entre mutants situés dans des gènes différents). Cependant, dans un certain nombre de croisements, on n'observe pas de recombinaison. Ces deux situations doivent être examinées successivement.

— On observe l'apparition de recombinés. La première conclusion est évidente : la recombinaison peut avoir lieu *à l'intérieur d'un gène*. La seconde est que ce phénomène permet de distinguer deux allèles différents d'un même gène.



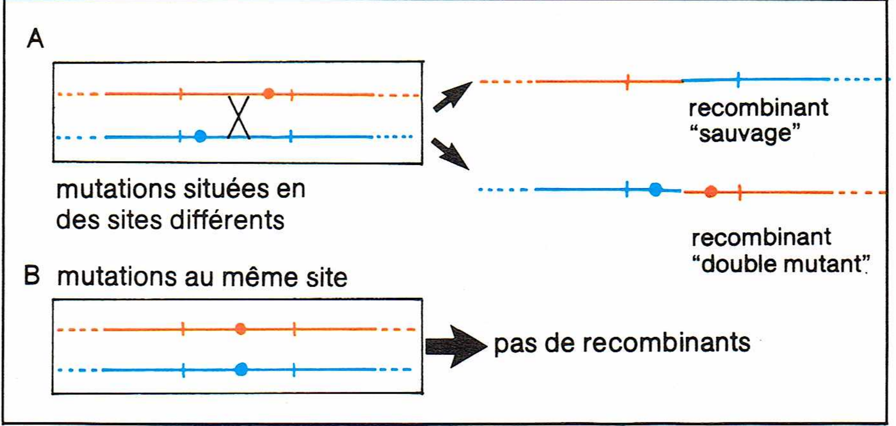
▲ ***Phénomène de*** **recombinaison** ***génétique chez le bactériophage*** **T_4.**

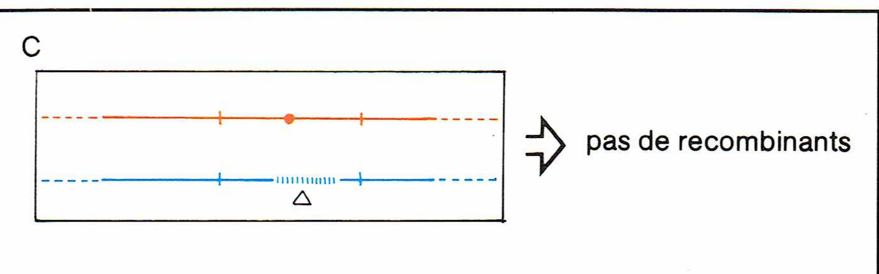
En effet, si deux génomes mutants, par le jeu de la recombinaison, permettent de reconstituer un génome « sauvage », c'est qu'ils ne sont pas identiques.

— Si l'on n'observe pas l'apparition de descendants, alors que l'on sait que la recombinaison intragénique est possible, quelle interprétation peut-on fournir ?

La première interprétation est que les sites des mutations des deux virus sont situés au même endroit du gène.

Ainsi, le schéma ci-dessous (A) montre que, si les mutations sont localisées en des sites différents du gène, il est possible qu'il se produise une *recombinaison entre les sites mutants*. Cela permet la formation de recombinants.





▲ **La recombinaison génétique** ***n'est possible que si les mutations sont situées en des sites différents (A); elle n'est pas possible si les mutations sont localisées au même site (B); enfin, une délétion △ entraîne l'absence de recombinaison (C).***

Par contre, si les deux mutations sont localisées au même site (schéma ci-dessus [B]), il est impossible qu'il y ait une recombinaison entre eux. Cela exclut la possibilité de formation de recombinants.

La deuxième interprétation est que l'une des mutations est une délétion qui chevauche le site de la deuxième mutation. On conçoit que le résultat soit identique à celui de la situation précédente : il y a impossibilité de produire des types recombinés (schéma ci-dessus [C]).

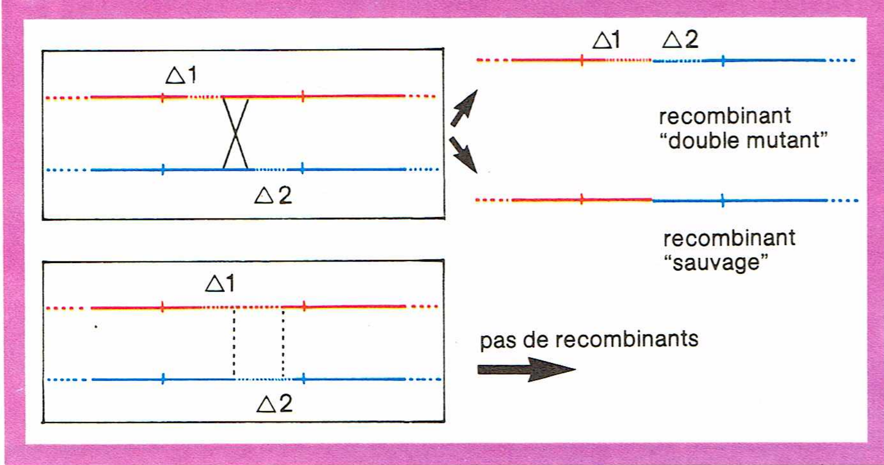
Comment peut-on choisir entre les deux interprétations ?

Localisation et cartes génétiques

Il faut d'abord faire remarquer que plus une délétion sera grande, plus le nombre de sites mutants ponctuels qu'elle chevauchera sera grand. Expérimentalement, cela se traduira par le fait que la délétion sera incapable de

recombiner avec un grand nombre de sites mutants qui se recombinent entre eux. Ce phénomène est intéressant à plusieurs points de vue. Premièrement, il procure un moyen de reconnaître les délétions de taille importante; deuxièmement, il permet d'établir déjà une localisation des sites mutants. En effet, on peut penser que tous les sites mutants qui ne se recombinent pas avec une délétion sont localisés dans le même segment chromosomique, et que celui-ci manque dans la souche qui porte la délétion.

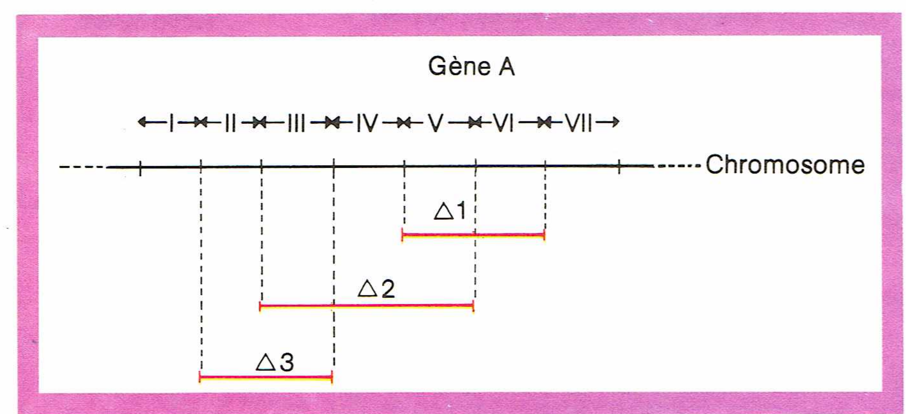
D'autre part, deux délétions qui se chevauchent, complètement ou partiellement, ne peuvent restaurer un gène sauvage par recombinaison. Il est possible d'ordonner linéairement les délétions (schéma ci-dessous).



Richard Colin

▼ *Si deux délétions (Δ_1 et Δ_2) se chevauchent, la recombinaison ne peut avoir lieu.*

On voit (schéma ci-dessous) que les délétions Δ_1 et Δ_2 ont une partie commune. Si l'on possède une troisième délétion Δ_3 qui ne se recombine pas avec Δ_2 mais qui se recombine avec Δ_1, il existe une seule façon de la placer linéairement sur le chromosome. Les délétions ont été utilisées pour faire la carte d'un gène chaque fois que cela a été possible car c'est une méthode non ambiguë.



Richard Colin

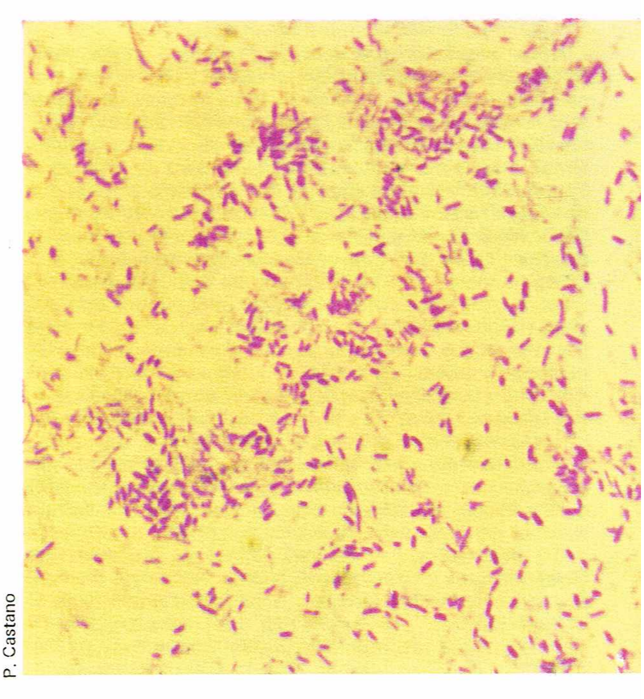
▲ *Établissement d'une* **carte chromosomique** *grâce aux délétions.*

Par exemple, pour localiser une mutation ponctuelle $rIIA_1$ par rapport aux trois délétions Δ_1, Δ_2 et Δ_3, on va croiser les souches $rIIA_1 \times rII\Delta_1$, $rIIA_1 \times rII\Delta_2$ et $rIIA_1 \times rII\Delta_3$. Selon les résultats, on pourra localiser la mutation $rIIA_1$ dans une des 7 régions délimitées par les délétions dans le gène rIIA. Si $rIIA_1$ se recombine avec Δ_1, Δ_3, mais pas avec Δ_2, le site mutant se trouve dans la région IV; si $rIIA_1$ ne se recombine ni avec Δ_1, ni avec Δ_2, mais avec Δ_3, il se trouve dans la région V, etc. Cette méthode, appliquée à tous les sites mutants ponctuels, donne des résultats clairs et permet d'*ordonner linéairement* les sites mutants qui font partie d'un même gène.

Dans le cas du système rII du virus T_4, cette méthode a même permis de localiser les deux gènes A et B l'un par rapport à l'autre : en effet, on a trouvé des délétions chevauchant à la fois une partie du gène rIIA et une partie du gène rIIB. L'hypothèse la plus simple pour expliquer cette observation est que les gènes rIIA et rIIB sont contigus sur le chromosome du virus et que les parties de rIIA et rIIB chevauchées par la délétion sont adjacentes.

Pour conclure, on voit qu'une analyse génétique fondée sur les tests de complémentation et de recombinaison permet, par des moyens indirects (production ou non d'une descendance, obtention ou non de recombinants), de caractériser sans ambiguïté un système complexe de gènes et d'en établir la carte sur le chromosome.

De cette analyse, il ressort aussi qu'on peut définir un gène comme une région du chromosome responsable d'une fonction cellulaire et constituée d'un assemblage linéaire d'unités susceptibles de muter, entre lesquelles peuvent se produire des recombinaisons et qui peuvent exister sous plusieurs états (allèles) mutuellement exclusifs.


P. Castano

▶ **Escherichia coli = Bacillus coli** *(coloration de contraste).*

La génétique des Bactéries

Parmi les organismes les plus utilisés à l'heure actuelle pour l'étude de la nature et du mode d'action des gènes, beaucoup sont des Bactéries.

Ces organismes sont souvent qualifiés de *Procaryotes* car, au contraire des *Eucaryotes* (tous les organismes supérieurs), ils ne possèdent pas de noyau différencié entouré d'une membrane nucléaire. Ils présentent à la place une zone centrale, appelée par les cytologistes *région nucléaire,* où se trouve l'ADN du chromosome.

Une Bactérie comme *Escherichia coli (E. coli)* est environ 500 fois plus petite qu'une cellule animale ou végétale. Cet organisme est incapable d'effectuer la photosynthèse. Il faut donc lui fournir dans le milieu de culture une source de carbone assimilable; le plus souvent, il s'agit de glucose. Dans un milieu à la température de 37 °C et contenant du glucose, le temps de génération est d'environ 60 minutes. On peut rendre le milieu plus riche en fournissant, par exemple, des vitamines, des acides aminés et des bases puriques et pyrimidiques. Dans ce cas, le temps de génération peut descendre à 20 minutes seulement.

Le nombre et la taille des cellules bactériennes d'une culture peuvent être évalués à l'aide du microscope. Cependant, cet instrument est incapable de révéler si les cellules sont vivantes ou mortes. Le seul test non ambigu est d'examiner la capacité des cellules à se diviser. Pour cela, on étale une suspension de faible concentration en cellules bactériennes sur un milieu nutritif solidifié (par adjonction d'agar-agar). Les cellules vivantes vont donner naissance à deux cellules filles qui, elles-mêmes, vont se diviser, et ainsi de suite.

Après plusieurs heures d'incubation à 37 °C, on voit apparaître des groupes isolés de cellules bactériennes : les colonies. Si, au départ, la concentration initiale de la suspension étalée est telle que, lorsqu'elles apparaissent, les colonies ne se chevauchent pas, chacune de celles-ci

provenant d'une unique cellule, on peut connaître la concentration de la suspension originelle. Cette origine commune de toutes les cellules constituant, à un moment donné, une colonie explique qu'elles soient identiques ; elles constituent une *clone*.

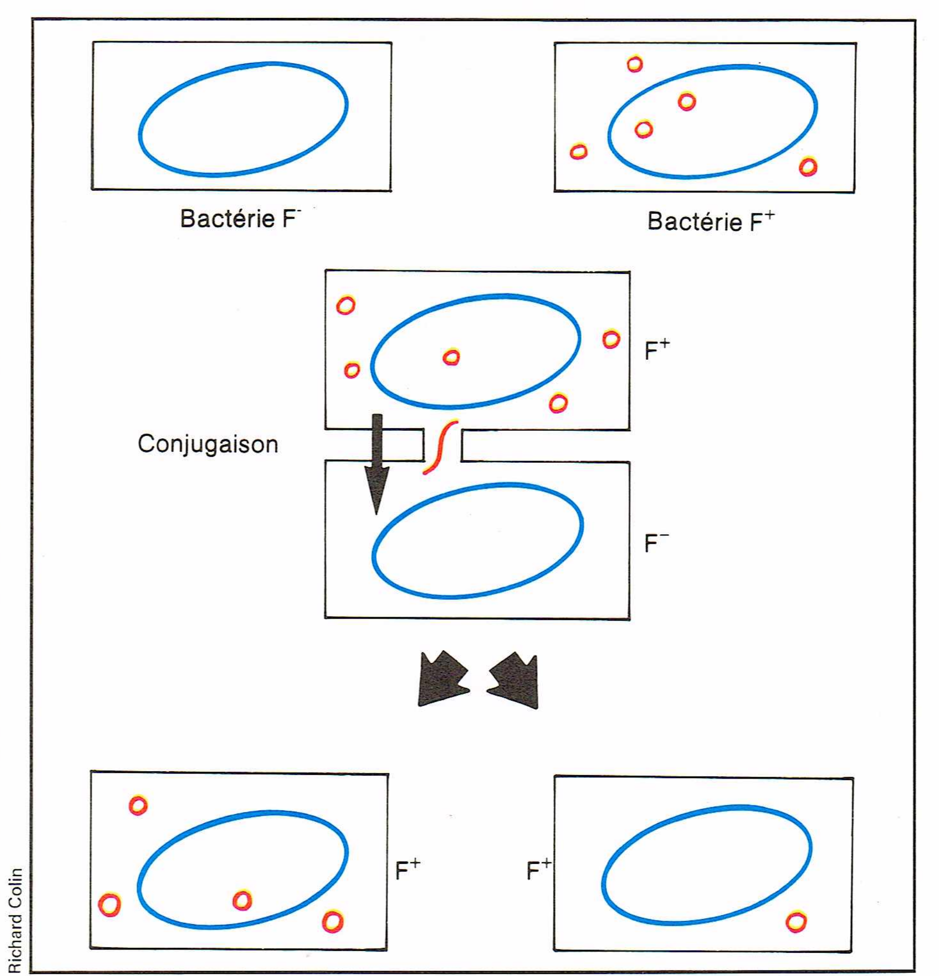
La conjugaison

La sexualité d'une Bactérie comme *E. coli* dépend d'un facteur particulier, le *facteur F*, qui impose des modalités particulières au cycle de reproduction de cet organisme. Le facteur F est un petit segment d'ADN qui peut se présenter sous deux formes : il est soit libre dans le cytoplasme de la Bactérie (il se présente alors comme un petit chromosome circulaire), soit intégré dans la continuité du chromosome bactérien.

Les Bactéries qui ne possèdent pas le facteur F sont appelées F^-. Elles se comportent comme réceptrices (ou femelles, par analogie avec les organismes supérieurs). Les Bactéries qui possèdent le facteur F sont donneuses (ou mâles). Si le facteur F est libre dans le cytoplasme, les Bactéries sont appelées F^+. Celles-ci ne peuvent pas transmettre leurs gènes aux Bactéries F^-, et sont seulement capables de leur transférer le facteur F. Les Bactéries réceptrices F^- sont alors transformées en F^+. Si le facteur F est intégré dans le chromosome bactérien, la Bactérie est alors une Bactérie Hfr qui transmet aux Bactéries F^- non seulement le facteur F, mais aussi le chromosome bactérien qui est en continuité avec lui. Ce phénomène s'appelle la *conjugaison*. Le facteur F ainsi que les autres particules analogues : morceaux d'ADN susceptibles d'exister à l'état libre dans le cytoplasme ou intégrés dans le chromosome, sont appelés des *épisomes*. Le facteur F est souvent qualifié d'*épisome sexuel*.

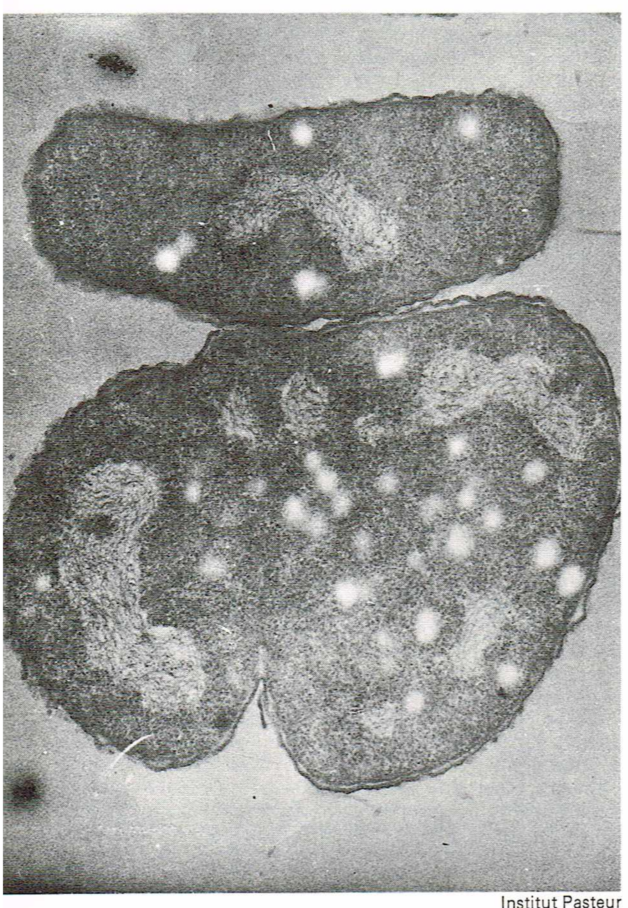
Pour toutes les Bactéries d'une souche Hfr donnée, l'épisome sexuel F est intégré au même endroit dans le chromosome bactérien. En effet, lors de la conjugaison avec un tel Hfr, celui-ci transfère le chromosome bactérien dans la cellule F^- en partant toujours du même point et transfère les gènes bactériens toujours dans le même ordre. Ces propriétés ont été utilisées pour réaliser la carte du chromosome d'*E. coli*.

En général, le transfert du chromosome bactérien est incomplet, et une partie seulement du chromosome

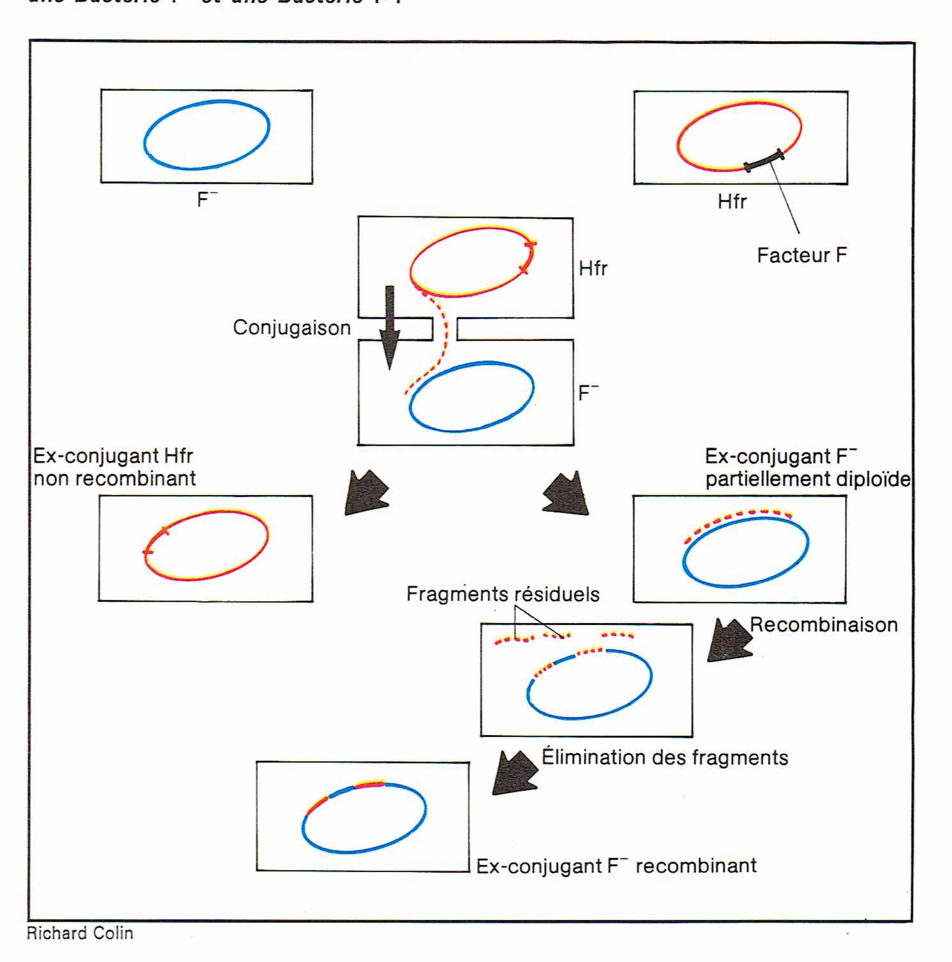


▲ *Représentation schématique de la conjugaison, chez* Escherichia coli, *entre une Bactérie* F^- *et une Bactérie* Hfr.

▼ *A gauche, microphotographie électronique du phénomène de la conjugaison chez* Escherichia coli ; *le facteur F ainsi que les autres particules analogues sont appelés des* épisomes : *le facteur* F *est souvent qualifié d'*épisome sexuel. *A droite, conjugaison chez* Escherichia coli *entre une Bactérie* F^+ *et une Bactérie* F^-.

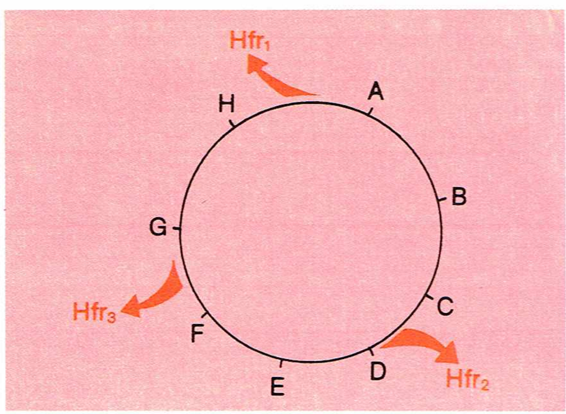


Institut Pasteur



Richard Colin

▶ *Circularité du chromosome d'*E. coli.



Richard Colin

pénètre dans la Bactérie F⁻ avant que les conjugants se séparent. Les cellules totalement diploïdes sont donc très rares, le cas le plus fréquent étant la formation de diploïdes partiels. Entre le chromosome de la bactérie F⁻ et le fragment de chromosome provenant du Hfr, peuvent se produire des crossing-over qui ont pour résultat l'apparition d'associations génétiques recombinées. Il reste dans le cytoplasme de l'ex-conjugant recombinant des fragments de chromosomes résiduels qui sont éliminés rapidement lors des divisions suivantes. Les cellules résultantes sont donc haploïdes.

Conjugaison et localisation des gènes

Expérimentalement, on peut interrompre à volonté la conjugaison à un moment donné, simplement en séparant les conjugants par une agitation violente du milieu. Si la séparation a lieu peu de temps après le début de la conjugaison, seuls les gènes très proches de l'extrémité antérieure du chromosome ont pu pénétrer dans la Bactérie réceptrice. Il est alors possible de repérer la position des gènes sur le chromosome d'*E. coli*, en déterminant le moment auquel un allèle d'un gène donné pénètre dans les cellules F⁻ lors d'une conjugaison avec un Hfr donné. On peut localiser les gènes les uns par rapport aux autres : lors d'une conjugaison, si un gène B pénètre en un temps t, qu'un gène C pénètre en un temps $t_1 > t$, c'est que celui-ci est situé plus loin de l'extrémité antérieure du chromosome transféré que celui-là. Inversement, si un gène A est transféré en un temps $t_2 < t$, c'est que A est plus près que B de cette extrémité. On peut symboliser ces rapports par un schéma figurant l'ordre dans lequel sont transférés les marqueurs chromosomiques :

←A—B—C—.

On a noté plus haut que le chromosome bactérien n'était pratiquement jamais transféré en entier. Cela a pour conséquence qu'avec une souche Hfr donnée il est impossible d'établir complètement la carte, car les gènes très distants de l'extrémité antérieure du chromosome ne seront pratiquement jamais transférés à la Bactérie F⁻.

Heureusement, on possède de nombreux Hfr qui diffèrent entre eux par l'endroit où s'est intégré l'épisome sexuel F dans le chromosome et, par conséquent, dans lesquels l'origine du chromosome, lors du transfert à la conjugaison, a changé.

Si une souche Hfr_1 transfère dans l'ordre les gènes A, B, C, D :

Hfr_1 ←A—B—C—D—,

on aura une souche Hfr_2 qui transférera les gènes D, E, F, G :

Hfr_2 ←D—E—F—G—,

puis une troisième Hfr_3 qui transférera les gènes G, H, A, B :

Hfr_3 ←G—H—A—B—.

On voit que le dernier Hfr transfère à la suite les derniers gènes et les premiers. La seule solution que l'on ait pour arranger les gènes linéairement, c'est d'imaginer que le chromosome d'*E. coli* est circulaire.

De nombreuses données supplémentaires permettent de vérifier cette hypothèse (y compris la vision directe au microscope électronique) et d'établir que la circularité de la carte génétique d'*E. coli* correspond bien à la circularité du chromosome. Cela suppose que, lors de la conjugaison, le chromosome de la cellule Hfr doit se rompre et qu'une extrémité, toujours la même, pénètre dans la cellule F⁻. En fait, tout se passe comme si la rupture coïncidait avec un cycle de réplication du chromosome et que seul un des brins fils, nouvellement synthétisés, pénétrât dans la Bactérie réceptrice. Dans les conditions optimales, on peut estimer que le passage du chromosome entier s'effectue en 90 minutes.

Cette méthode de localisation est très sûre mais ne permet de localiser les uns par rapport aux autres que des gènes relativement éloignés. En effet, des gènes proches ou même des sites mutants d'un même gène seront transférés par un Hfr en des temps tellement proches qu'on ne pourra pas distinguer lequel passe en premier. Pour la localisation *fine*, on est donc obligé de procéder différemment. Il est possible de localiser les gènes en prenant comme critère la *recombinaison*.

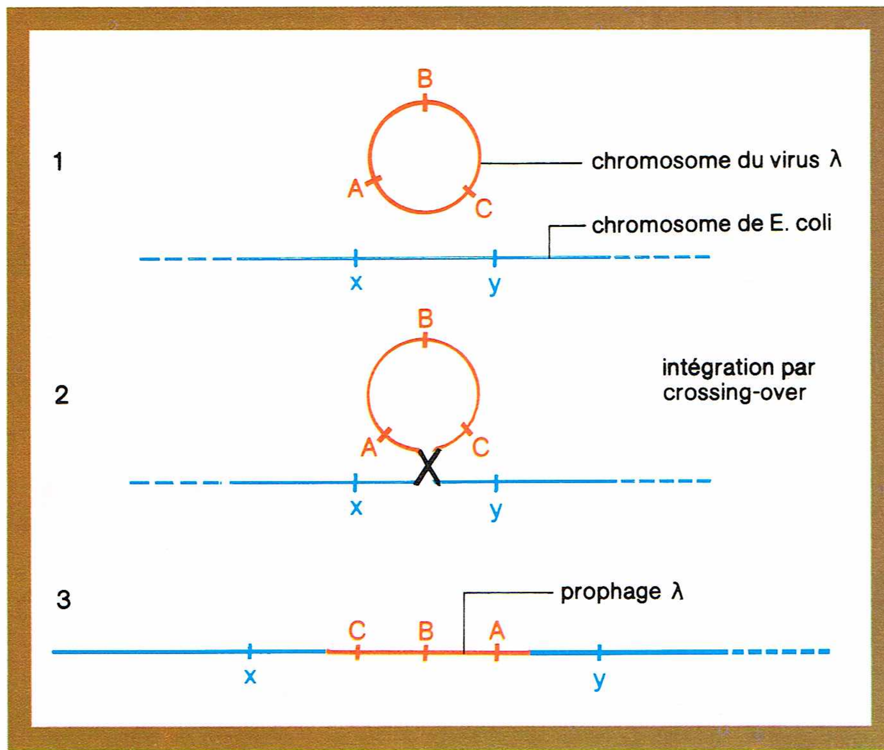
Nous avons vu plus haut que, lors de la conjugaison, il se formait un diploïde partiel. Au niveau de la partie du chromosome présente en double exemplaire, il peut se produire des échanges (crossing-over) entre le chromosome de la bactérie F⁻ et le fragment de chromosome provenant du Hfr. Ces échanges aboutissent à l'apparition de recombinants parmi les ex-conjugants F⁻. C'est l'étude de ces recombinants et de leur fréquence d'apparition qui permet, comme chez les organismes supérieurs (Eucaryotes), d'établir la carte des gènes. Nous verrons ultérieurement comment on utilise précisément ce principe.

La lysogénie

Certains virus bactériophages n'effectuent pas toujours un cycle de multiplication dès qu'ils ont pénétré dans la Bactérie. En effet, dans certains cas, comme pour le phage λ, leur chromosome peut s'insérer dans la continuité du chromosome bactérien à un endroit donné et se répliquer avec lui de façon synchrone à chaque génération cellulaire. Quand le virus est présent sous cette forme, il est appelé *prophage* (prophage λ par exemple). Les Bactéries hôtes contenant un prophage sont dites *Bactéries lysogènes*. Les virus susceptibles de donner des prophages sont des virus *lysogéniques*.

On ne peut être certain qu'une Bactérie est lysogène que lorsque le prophage se détache du chromosome bactérien et entame un processus lytique, qui aboutit à la lyse de la Bactérie, donc à la récolte d'une descendance virale à partir d'une population de Bactéries supposées lysogènes. On pense actuellement que l'intégration du chromosome viral dans le chromosome bactérien se fait par un crossing-over.

▼ *Intégration du chromosome du virus λ dans la continuité du chromosome de la Bactérie* E. coli, *par crossing-over.*



Richard Colin

La transduction

On a vu plus haut que les gènes bactériens peuvent être transmis lors de la conjugaison. Il arrive aussi qu'ils soient transmis passivement d'une Bactérie à une autre par des particules virales. C'est le phénomène de la *transduction*; celui-ci se produit lors de l'infection des Bactéries par certains virus, dits *phages transducteurs*, qui, après le cycle de multiplication du virus et lors de la formation des particules, incorporent une faible partie du chromosome bactérien (de l'ordre de 1 % ou moins du chromosome). Mais, dans ce cas, le chromosome viral est amputé d'une partie à peu près équivalente d'ADN (1 % du chromosome bactérien, c'est-à-dire presque la totalité du chromosome du virus) ; il est, dans la plupart des cas, sans activité biologique (inoffensif). Un tel virus est cependant capable d'injecter son chromosome à une nouvelle Bactérie. Il peut alors se produire des crossing-over et des recombinaisons entre gènes du chromosome bactérien et gènes transduits.

Ce phénomène est d'utilisation très commode pour indiquer si deux gènes sont très proches l'un de l'autre ou éloignés. En effet, le nombre de gènes bactériens transduits dans la même particule virale est très petit. Si l'on observe que deux gènes sont souvent transduits en même temps *(co-transduits)*, c'est qu'ils sont proches l'un de l'autre sur le chromosome bactérien.

La transformation

Le transfert génétique le plus simple de tous est un troisième phénomène : celui de la *transformation*. Il a été mis en évidence très tôt (Griffith, 1928) sur le pneumocoque *Diplococcus pneumoniae*. Il consiste en ceci : des cellules de génotype a^- sont cultivées dans certaines conditions et mises en contact avec de l'ADN extrait à partir de cellules de génotype a^+. Dans la descendance des cellules ainsi traitées, il peut apparaître jusqu'à 10 % de cellules *transformées*, c'est-à-dire de génotype a^+. Schématiquement, le phénomène est très simple :

cellules a^- + ADN (de cellules a^+) $\rightarrow$ cellules a^+.

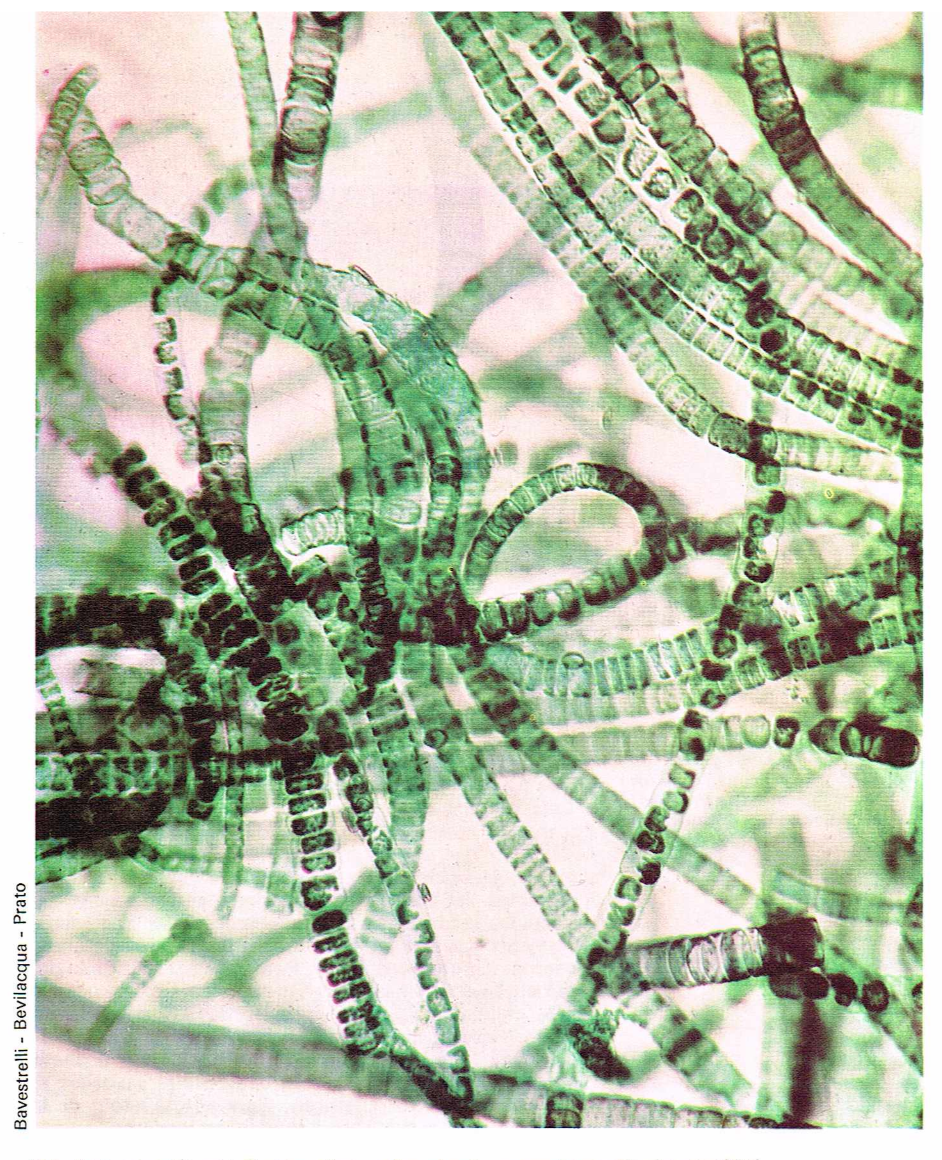
Si l'on entre dans le détail, les choses sont un peu plus compliquées. La première étape doit consister en un passage de l'ADN du milieu à l'intérieur des cellules. On a pu montrer que seuls des morceaux d'ADN de petite taille pouvaient pénétrer dans les Bactéries. L'utilisation de la transformation permet alors, comme pour la transduction, de savoir si deux gènes sont proches l'un de l'autre (gènes souvent transférés ensemble). Si le mauvais rendement de la transformation chez la plupart des Bactéries en a limité les applications, elle est cependant très utilisée pour localiser les gènes de Bactéries pour lesquels on ne dispose pas de phage transducteur commode (*Bacillus subtilis* par exemple).

On voit que les Bactéries, comme les virus, possèdent une véritable sexualité. On peut effectuer des croisements où l'on distingue parents et descendants et au cours desquels se produisent des recombinaisons génétiques. Il apparaît quelque chose de plus que chez les virus : il y a deux sortes de parents : les parents donneurs (lors de la conjugaison, ce sont des Hfr) et les parents receveurs (F^-). Est-ce le premier pas vers une différenciation sexuelle ?

La génétique des Eucaryotes

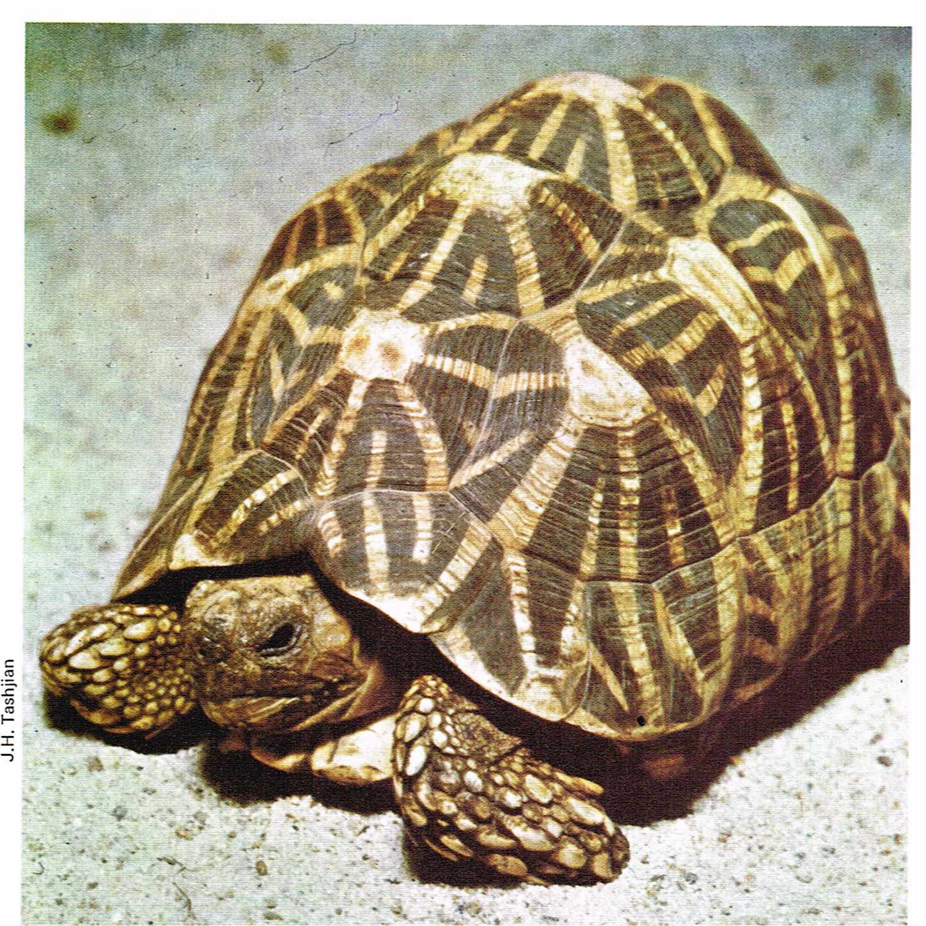
Alors que les organismes Procaryotes peuvent paraître une classe homogène (unicellulaires sans noyau différencié), les organismes Eucaryotes, qui regroupent tous les autres êtres vivants (à l'exception des virus, qui forment un groupe à part), présentent une extraordinaire variété de formes. En effet, ils regroupent des organismes aussi différents que les Protozoaires ciliés comme la paramécie, les animaux, les végétaux supérieurs et les Algues unicellulaires, comme *Chlamydomonas*. Qu'ont-ils en commun ?

D'un point de vue cytologique, la cellule d'un organisme eucaryotique présente une différenciation très poussée : le noyau est individualisé, limité par une double membrane. Le cytoplasme contient de nombreux organites, dont il est établi maintenant que chacun remplit des fonctions spécialisées : assimilation chlorophyllienne dans les chloroplastes, respiration dans les mitochondries, synthèses au niveau du réticulum endoplasmique, etc. Cette structure cellulaire très différenciée est constante

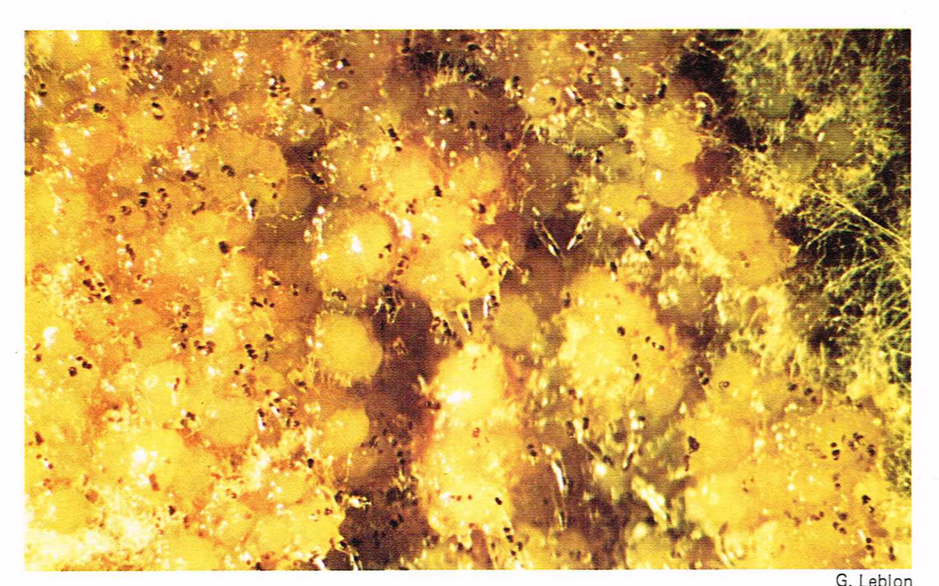


Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

▼▲ *Les organismes* **Eucaryotes** *présentent une extraordinaire variété de formes; en haut, des Algues vertes filamenteuses, à filaments non ramifiés,* **Ulothrix zonata**; *en bas, une grosse et belle tortue,* **Testudo elegans**, *aux dessins de la carapace si caractéristiques. Cependant, au niveau cellulaire, ils forment un groupe homogène et cela est vrai aussi du point de vue génétique; les Eucaryotes présentent un cycle de* **reproduction sexuée**, *caractérisé par une alternance des phases* **haploïde** *et* **diploïde**.



J.H. Tashjian



G. Leblon

▲ *Organes de fructification (apothécies)* d'Ascobolus immersus, *montrant les asques enfermant les spores.*

chez tous les Eucaryotes. Au niveau cellulaire, les Eucaryotes forment donc un groupe homogène.

Cela est vrai aussi d'un point de vue génétique. Les Eucaryotes présentent un cycle de reproduction sexuée caractérisé par une alternance des phases haploïde et diploïde. Au cours de la phase haploïde, représentée chez les plantes supérieures et les animaux uniquement par les cellules germinales et par leurs précurseurs immédiats, les noyaux des cellules contiennent un seul jeu de chromosomes (*n* chromosomes). Pendant la phase diploïde, représentée chez les organismes supérieurs par toutes les autres cellules de l'organisme, les noyaux contiennent chacun deux chromosomes de chaque sorte (2 *n* chromosomes). La transition de la phase haploïde à la phase diploïde s'effectue par la fusion des cellules sexuelles et de leurs noyaux (fécondation), alors que, le retour de la phase diploïde à la phase haploïde est accompli par le biais de deux divisions nucléaires successives au cours desquelles le lot de chromosomes ne se divise qu'une seule fois. Ces deux divisions spéciales constituent ensemble la *méiose*. Les produits d'une méiose individuelle, au nombre de quatre, forment une *tétrade* de noyaux haploïdes. Cependant, il se peut, comme au cours de la formation de l'ovule chez les animaux ou les plantes supérieures, qu'un seul des membres d'une tétrade soit utilisé pour la suite du développement.

Les phénomènes de la fécondation et de la méiose sont caractéristiques de la quasi-totalité des organismes Eucaryotes. L'importance biologique de la méiose réside dans le fait qu'il s'y produit la *recombinaison génétique*. Les membres des différentes paires de chromosomes se distribuent *(ségrègent)* indépendamment les uns des autres dans les produits haploïdes, de telle sorte qu'il se produit des réassociations de facteurs génétiques portés par des chromosomes différents. De plus, au cours de la prophase de la première division de la méiose (prophase I), ont lieu des échanges entre parties homologues d'une même paire chromosomique (crossing-over). Cela entraîne qu'il peut même y avoir recombinaison entre des gènes portés par un même chromosome.

Au niveau d'une population, c'est là un phénomène extrêmement important, qui se traduit par un *brassage* génétique. Quand on passe d'une génération à la suivante, les recombinaisons méiotiques font apparaître des réassortiments dans les génotypes, ce qui aboutit, dans une population, à une très forte hétérogénéité des génotypes. Ces génotypes auront des valeurs adaptatives variées vis-à-vis de l'environnement notamment, et c'est cette variabilité qui permet au mécanisme de la sélection naturelle de sélectionner les génotypes les plus compétitifs d'une population. Le brassage génétique dû à la recombinaison génétique est, comme nous le verrons plus loin, un des éléments essentiels aux mécanismes de la sélection et de l'évolution.

Un des buts importants de la génétique est donc de comprendre le processus de la méiose et, en particulier, le mécanisme de l'échange entre chromosomes homologues.

La génétique des Ascomycètes

A l'heure actuelle, les Champignons Ascomycètes sont les organismes qui se prêtent le mieux à l'expérimentation. Ils présentent des morphologies très variées, qui vont de la moisissure (type *Penicillium*), des formes unicellulaires (types Levures) à la truffe bien connue des gourmets, en passant par les Ascomycètes à chapeau comme la morille.

Deux types d'Ascomycètes sont très utilisés en génétique ; les moisissures filamenteuses (*Penicillium, Neurospora, Sordaria, Ascobolus, Podospora*, etc.) et les Levures (*Saccharomyces, Schizosaccharomyces,* etc.). Le caractère qui permet de regrouper tous les Ascomycètes tient aux modalités de la reproduction : la méiose se produit dans une cellule appelée *asque,* et les produits de cette méiose restent, à la fin, enfermés *ensemble* dans la paroi de l'asque.

Le cycle d'un Ascomycète typique (les Levures étant la seule exception importante) est à *prédominance haploïde* ; la fusion des noyaux (caryogamie) se produit juste au moment de la formation de l'asque. Le noyau diploïde ainsi constitué ne subit aucune mitose, mais entame immédiatement le processus de la méiose. La phase diploïde est donc réduite à l'extrême, c'est-à-dire à la seule existence du noyau diploïde préméiotique, ou *zygote*. Il est nécessaire de garder cette caractéristique du cycle présente à l'esprit pour comprendre la génétique des Ascomycètes.

Sans entrer dans les détails de la fécondation ou de la fructification, il est important de noter que les noyaux qui fusionnent peuvent ou doivent, selon les espèces, provenir de souches différentes, et sont ainsi susceptibles de constituer un croisement génétique.

Après la méiose, les 4 noyaux résultants sont enfermés chacun dans une ascospore où, le plus souvent, ils se divisent encore une fois, après quoi, les 8 noyaux sont enclos dans 8 ascospores. Dans la plupart des cas, les ascospores restent enfermées dans la paroi de l'asque avant d'être libérées.

Chez les Ascomycètes supérieurs, comme *Sordaria* ou *Ascobolus,* une seule fructification produit de nombreux asques. A maturité, les spores sont violemment projetées en groupes cohérents de 8 ascospores d'un même asque.

La transmission des gènes à travers la méiose

On a vu précédemment comment se déroulait la méiose et, en particulier, quel était le comportement des chromosomes au cours des deux divisions successives qui la constituent. On sait, d'autre part, que le support matériel des caractères héréditaires est l'ADN et que celui-ci se trouve dans les chromosomes. Il doit donc exister une relation étroite entre le devenir des chromosomes à la méiose et la transmission d'un caractère génétique. Il est possible de préciser cette hypothèse, qui, on le verra, est vérifiée expérimentalement.

Nous savons que, chez les organismes Procaryotes (principalement, les virus et les Bactéries), l'ADN est divisé en unités fonctionnelles : les gènes, disposés linéairement le long du chromosome. On va supposer qu'un gène donné A occupe une place déterminée, ou *locus,* sur un chromosome donné.

Au cours de la méiose, le noyau qui la subit est diploïde, c'est-à-dire que chaque chromosome existe en double exemplaire : pour chaque chromosome existe un *homologue*. Si la première proposition est vraie, son corollaire est que le chromosome homologue porte, au locus correspondant à celui du gène A sur le premier chromosome, un autre gène A. Ces deux gènes homologues sont des allèles ; ils peuvent être identiques ou être des formes alléliques différentes du même gène.

La ségrégation des allèles

La figure (p. ci-contre en haut) schématise le devenir, au cours de la méiose, d'une paire de chromosomes homologues portant des allèles différents *a* et a^+ d'un gène donné A. On notera que chez les Ascomycètes le doublement du stock d'ADN se produit *avant* la caryogamie. Dès le début de la méiose, on peut considérer que les chromosomes sont déjà dédoublés sur toute leur longueur *excepté au niveau du centromère :* on dit alors que les chromosomes sont constitués de deux chromatides. Chacune des chromatides porte, au locus du gène A, un allèle

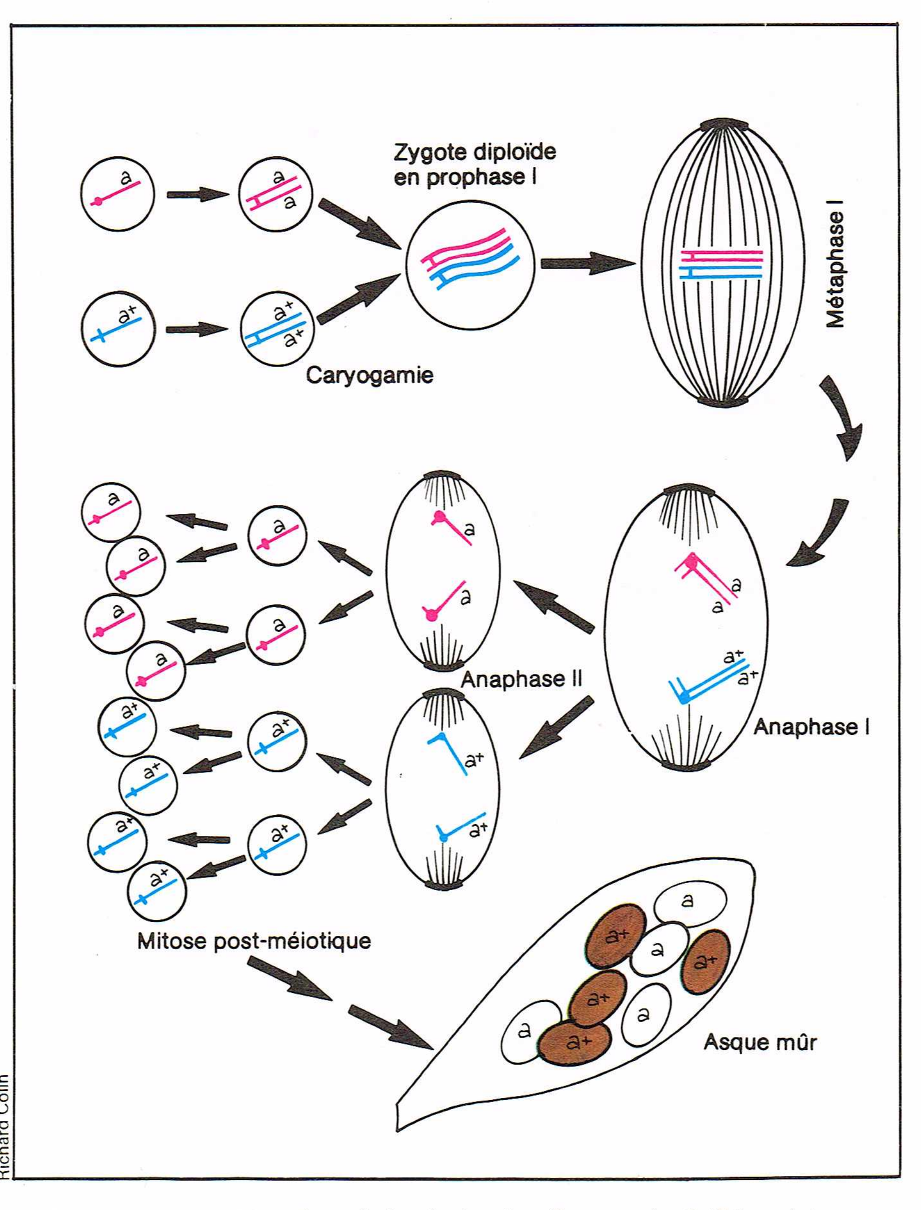
(soit *a*, soit a^+). Au cours de la première division de la méiose, *les chromosomes homologues se séparent*, et, lors de la deuxième division, *les centromères se divisent*. Les quatre produits de la méiose possèdent un chromosome qui porte soit l'allèle *a*, soit l'allèle a^+. On dit qu'il y a eu *ségrégation* (séparation) des allèles qui étaient réunis dans le *zygote*. On a deux produits qui possèdent l'allèle *a*, et deux produits qui possèdent l'allèle a^+. C'est une *ségrégation 1:1*. Les gènes se comportent donc comme les chromosomes qui les portent, et ils présentent la même ségrégation au niveau des produits de la méiose.

Sur la figure ci-contre, on voit que, chez un Ascomycète comme *Ascobolus*, il se produit après la méiose, mais à l'intérieur de l'asque, une mitose supplémentaire, dite *mitose postméiotique*. On aboutit, après formation des spores (chaque spore contient un noyau) à des asques contenant 8 ascospores. On constate aussi que la ségrégation des allèles n'a pas changé : on a 4 ascospores a^+ et 4 ascospores *a*, c'est-à-dire toujours une ségrégation 1:1.

Lorsqu'on effectue un croisement, il arrive que l'on ne puisse pas récolter les asques individuellement. Il est alors impossible de connaître la ségrégation d'un caractère dans les produits d'une même méiose. On peut cependant observer quelle est la ségrégation au niveau de la population d'ascospores en *vrac*. Les spores en vrac constituent une population de produits de méiose. Si la ségrégation d'un couple d'allèles a/a^+ est 1:1 au niveau d'un asque, tous les asques provenant d'un même croisement montreront la même ségrégation 1:1. C'est-à-dire que dans *tous* les asques provenant d'une cellule diploïde a^+/a, il y aura 4 spores a^+ et 4 spores *a*. Au niveau de la population des spores prises en vrac, on aboutit à 50 % de spores *a* et 50 % de spores a^+, c'est-à-dire une ségrégation 1:1.

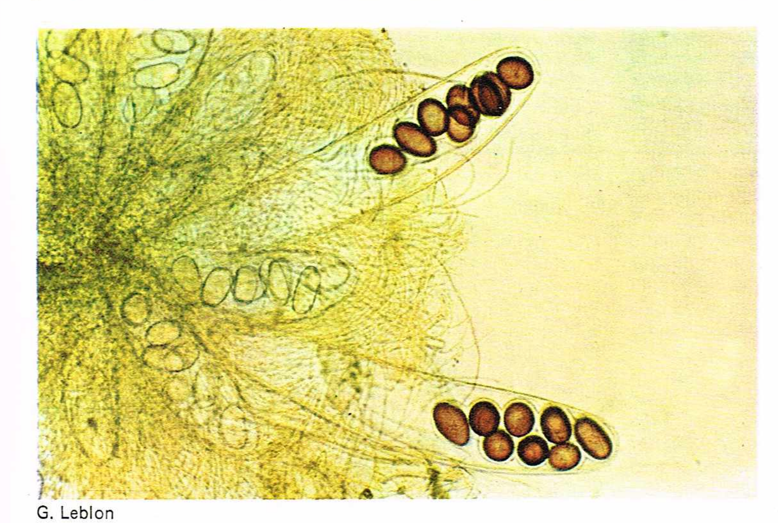
On voit que, *dans tous les cas*, lorsqu'on l'observe au niveau des produits de la méiose, *la ségrégation d'un couple d'allèles est une ségrégation 1:1*.

Avec le Champignon *Ascobolus*, il est possible de voir la ségrégation directement en observant les spores. Dans l'espèce *Ascobolus immersus*, fréquemment utilisée en génétique, plusieurs gènes interviennent dans la pigmentation des spores. Les spores dont les noyaux ont des génotypes entièrement « sauvages » sont brun foncé. Si un des gènes intervenant dans la pigmentation, par exemple le gène B, est présent sous une forme allélique mutante *b*, les spores ne seront pas colorées (blanches). Si l'allèle présent est b^+, les spores seront brunes. Si l'on effectue un croisement entre les deux souches $b \times b^+$, comment vont être les spores de la descendance ? La caryogamie va se faire entre un noyau *b* et un noyau b^+. La cellule diploïde (cellule mère de l'asque) va donc être *hétérozygote* au niveau du gène B : l'un des chromosomes de la paire concernée (celle qui porte le *locus* B) va porter l'allèle *b* (en double exemplaire, puisque à ce stade les chromosomes sont composés de deux chromatides réunies au niveau du centromère), et son homologue porte l'allèle b^+ (même remarque). La méiose va se dérouler et aboutir à une tétrade de 4 noyaux, 2 portant l'allèle *b*, 2 portant l'allèle b^+. Chacun d'entre eux va se diviser en deux à la mitose postméiotique, et les 8 ascospores formées dans l'asque contiendront chacune un de

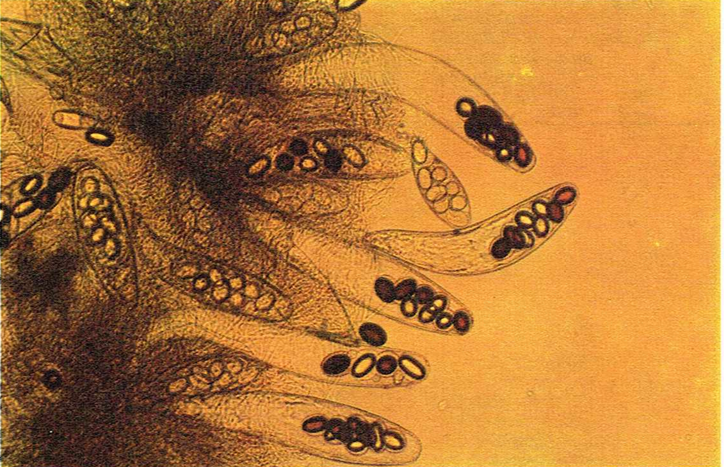


▲ *Représentation schématique de la ségrégation d'un couple d'allèles* a/a+ *au cours de la méiose chez l'Ascomycète* Ascobolus immersus.

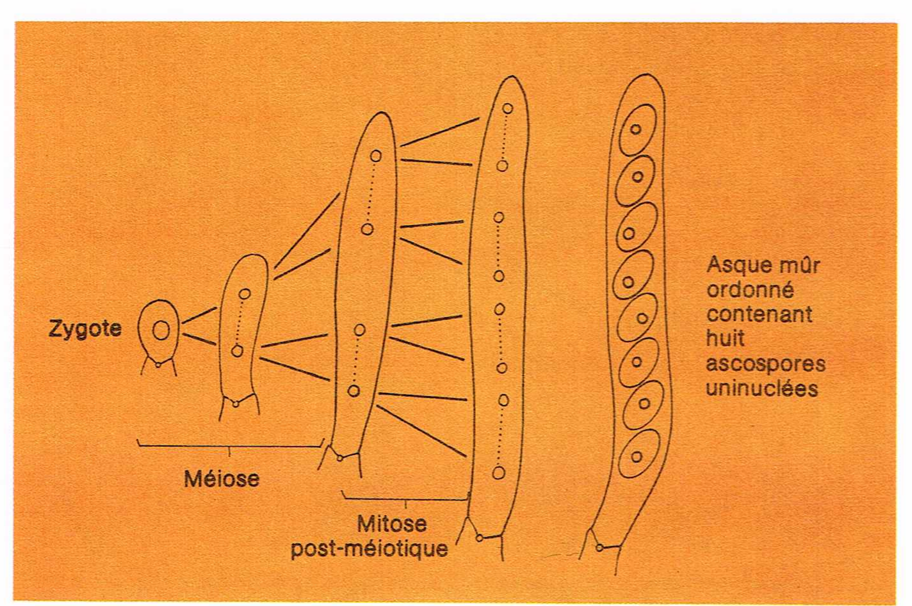
▼ *A gauche, asques mûrs d'*Ascobolus *montrant 8 spores sauvages brun foncé.*
A droite, asques mûrs contenant 4 spores sauvages brun foncé et 4 spores mutantes blanches. Ce Champignon est fréquemment utilisé en génétique, car il permet de voir la ségrégation directement en observant les spores.



G. Leblon



G. Leblon



▲ ***Représentation schématique de la méiose, de la mitose postméiotique et de la formation des spores dans le cas d'asques ordonnés chez*** **Neurospora crassa.**

ces 8 noyaux (4 noyaux *b*, 4 noyaux b^+). Si, à l'aide d'un stéréomicroscope, on observe les asques à ce stade, on constate que chacun est composé de 4 spores blanches (*b*) et de 4 spores brunes (b^+). Dans ce cas, il est possible de visualiser directement la ségrégation d'un couple d'allèles.

On voit que les Ascomycètes présentent, du point de vue expérimental, plusieurs avantages. D'abord, on observe le phénotype sur les cellules haploïdes. (On a vu précédemment qu'il y avait dans ce cas une relation directe entre le génotype et le phénotype, et que cette relation présentait peu d'ambiguïté, ce qui n'est pas le cas dans une cellule diploïde, qui peut être hétérozygote.) Ensuite, on observe ensemble les quatre produits d'une méiose individuelle. Ce croisement est, en même temps, la vérification d'une des lois de Mendel qui, en langage moderne, peut s'énoncer ainsi : deux gènes allèles s'excluent mutuellement dans une cellule haploïde. En effet, d'après ce qu'on a vu, il est impossible qu'une ascospore haploïde porte *à la fois* l'allèle *b* et l'allèle b^+. Elle ne peut contenir que l'un *ou* l'autre. Les caractères parentaux sont transmis *inchangés* et *séparément*.

Les asques « ordonnés »

Chez certains Ascomycètes (*Neurospora* ou *Sordaria*), non seulement les quatre produits de la méiose sont contenus dans l'asque, mais de plus, ils y sont disposés *dans l'ordre*. Cela provient de ce que l'asque est une cellule très allongée et étroite. Les noyaux formés y restent à leur place et, quand ils se divisent, les fuseaux de division ne se chevauchent pas.

Quand on effectue un croisement entre un mutant à spores blanches (*b*) et la souche sauvage à spores brunes (b^+) chez *Sordaria*, on observe l'apparition dans la descendance non pas d'un, mais de *six* types d'asques différents. Ceux-ci ne diffèrent que par l'ordre des spores. Dans tous les cas, il faut remarquer qu'ils contiennent toujours 4 spores blanches et 4 spores noires : on retrouve la ségrégation 1:1, caractéristique d'un couple d'allèles.

Quant aux différences qui apparaissent entre les types d'asques, on peut les ranger en deux groupes. Dans les types 1 et 2, on voit que les moitiés d'asques sont homogènes (schéma ci-dessous) : elles contiennent soit exclusivement des spores noires, soit exclusivement des spores blanches. Si l'on regarde les types 3 à 6, on voit que les demi-asques contiennent *à la fois* des spores blanches et des spores noires. En tenant compte du déroulement de la méiose, on peut interpréter ces deux types de répartition des spores dans les asques. Dans les types d'asques 1 et 2, les deux allèles du couple b/b^+ se sont séparés dès la première division de méiose : un des noyaux fils de la division I ne contenait que l'allèle *b*, et l'autre noyau fils ne contenait que b^+. On appelle cela une *ségrégation à la première division*, ou encore une *préréduction*. Dans les types d'asques 3, 4, 5 et 6 les deux noyaux fils issus de la première division de méiose contenaient encore chacun les deux allèles *b* et b^+. Ces deux allèles se sont séparés à la division suivante. Cela s'appelle une *ségrégation à la deuxième division* de méiose ou encore une *postréduction*.

Ségrégation à la première ou à la deuxième division

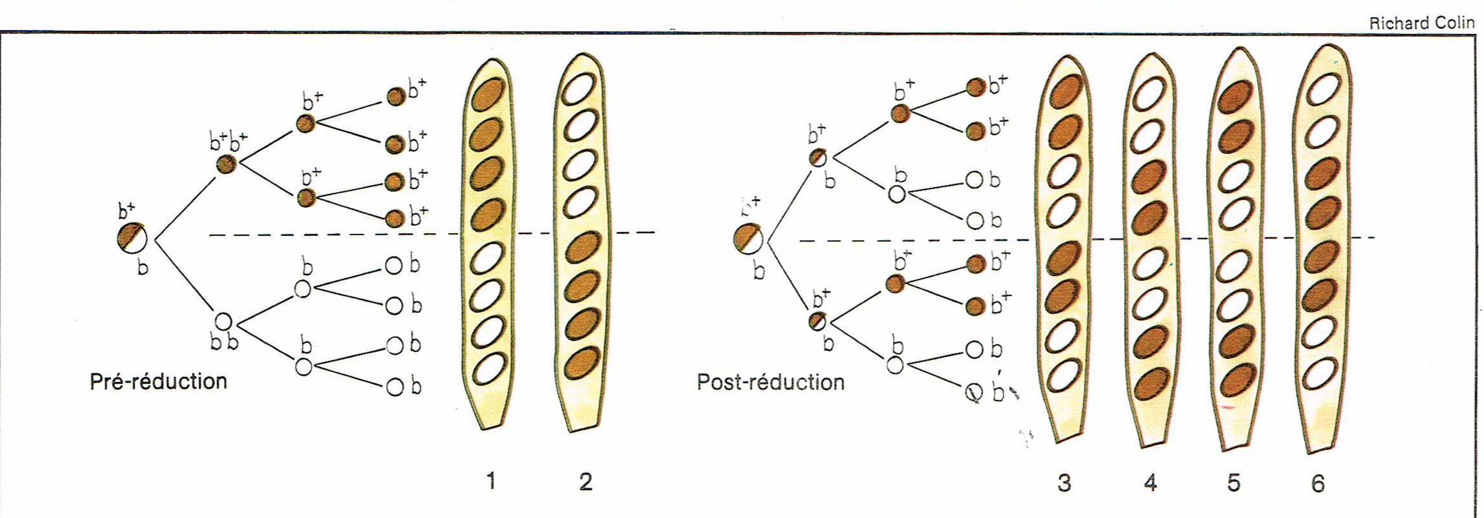
Nous avons vu qu'à la division I de la méiose les chromosomes homologues se séparent, mais que leurs centromères ne se divisent qu'à la division II. Cela est parfaitement compatible avec l'existence d'asques provenant de préréductions. En effet, dans le cas de préréductions, comme les demi-asques sont homogènes soit pour *b*, soit pour b^+, cela signifie que les noyaux issus de la division I étaient homogènes *b* ou b^+, et donc que les deux chromatides constituant un chromosome portaient le même allèle. En ce qui concerne les asques provenant de postréductions, le même raisonnement conduit à l'idée que, dans ce cas, les deux chromatides d'un même chromosome devaient porter chacune un allèle différent, l'une portant *b*, l'autre portant b^+.

Comment expliquer la postréduction d'un couple d'allèles ? Celle-ci est schématisée dans la figure page ci-contre, en bas. On admet qu'il peut se produire des crossing-over entre chromatides appartenant à des chromosomes homologues lors de la prophase de la division I de la méiose. Comme on l'a vu précédemment, au cours de la prophase de division I, au stade pachytène, les chromosomes d'une paire s'apparient, régions homologues contre régions homologues. Cet appariement, ou *synapsis*, est physiquement matérialisé par des structures différenciées que l'on voit au microscope électronique : les *complexes synaptinémaux*. Les données les plus récentes semblent montrer qu'il en existe un par paire de chromosomes. Cet appariement rigoureux est la première condition pour que puissent s'effectuer des crossing-over entre chromatides de chromosomes homologues. Les chiasmas que l'on peut observer au stade diplotène ou à la diacinèse ne sont sans doute que les conséquences des crossing-over.

Quoi qu'il en soit, on voit que l'explication du phénomène de postréduction fait intervenir l'hypothèse de crossing-over. La postréduction d'un couple d'allèles b/b^+ est déterminée par un crossing-over se produisant entre le centromère et le locus des allèles. Si le crossing-over se produit ailleurs que dans cet intervalle, on n'observera pas la postréduction du *locus* B, et donc l'échange ne sera pas détecté.

En observant, au cours de nombreuses expériences, les pourcentages de postréductions de couples d'allèles situés

▼ ***Représentation schématique de la préréduction (ségrégation à la première division) et de la postréduction (ségrégation à la deuxième division) dans les asques ordonnés.***



dans différents *loci*, on s'est aperçu qu'ils varient dans d'énormes proportions : de 0 % à plus de 60 %; d'autre part, ces pourcentages sont déterminés pour un locus donné. Cela signifie que la probabilité qu'il se produise un crossing-over dans un segment de chromosome compris entre le centromère et le locus du gène considéré est fixe, mais qu'elle varie selon les segments chromosomiques. L'hypothèse la plus simple est d'envisager que c'est la taille du segment chromosomique qui est la cause des variations : dans un petit segment la fréquence des crossing-over sera petite, et dans un grand segment cette fréquence sera élevée. Si l'on admet cette hypothèse, la mesure des fréquences de crossing-over nous donne un moyen de mesurer les distances qui séparent les gènes des centromères.

Le centimorgan, unité de mesure

Qui dit mesure dit aussi unité. L'unité de longueur des cartes génétiques est nécessairement arbitraire, comme toutes les unités de mesure : c'est le *centimorgan* (de Morgan, qui a découvert le crossing-over), ou encore l'unité de recombinaison :

$$1 \text{ centimorgan} = 1 \text{ U. rec.} = \frac{\text{nombre de remaniements chromatidiques}}{\text{nombre total de chromatides}} \times 100.$$

Prenons un exemple d'application. Chez *Neurospora*, on a effectué un croisement entre une souche b (spores blanches) et une souche b^+ (spores brunes) : $b \times b^+$. Dans la descendance on a observé les six types d'asques décrits en haut, à droite. On peut regrouper les résultats en disant qu'on a obtenu 1 004 asques, dont 806 montrent une préréduction du couple d'allèles b/b^+ (ou du locus B) et 198 montrent une postréduction. Le pourcentage de postréductions du locus B, c'est-à-dire le pourcentage d'asques postréduits apparaissant dans un croisement $b \times b^+$ est de 19,7 %. Cela signifie que, dans l'intervalle considéré, il se produit un crossing-over dans environ un cas sur cinq.

Dans chaque asque, il y avait à l'origine, dans le noyau qui a subi la méiose, quatre chromatides portant un allèle du gène B. Le nombre total de chromatides est donc : 1 004 × 4 = 4 016 (car chaque asque est le produit d'une méiose). Dans les asques préréduits, il n'y a pas eu de crossing-over entre le centromère et le locus B, donc aucun remaniement de chromatides. Dans les asques postréduits, il y a eu un crossing-over dans le segment chromosomique considéré, et donc *deux* remaniements chromatidiques (le crossing-over se fait entre deux chromatides sur les quatre en présence, et toutes deux sont remaniées). Le nombre de remaniements de chromatides est donc :

$$198 \times 2 = 396.$$

On peut maintenant exprimer la distance d qui sépare le locus B de son centromère :

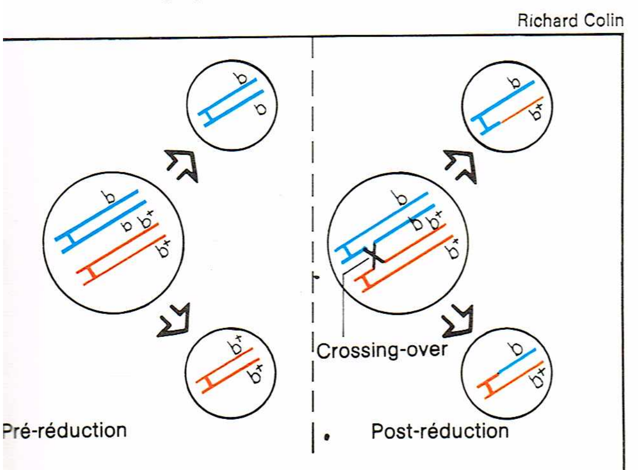
$$d = \frac{396}{4016} \times 100 = 9{,}86 \text{ centimorgans},$$

ou 9,86 unités de recombinaison.

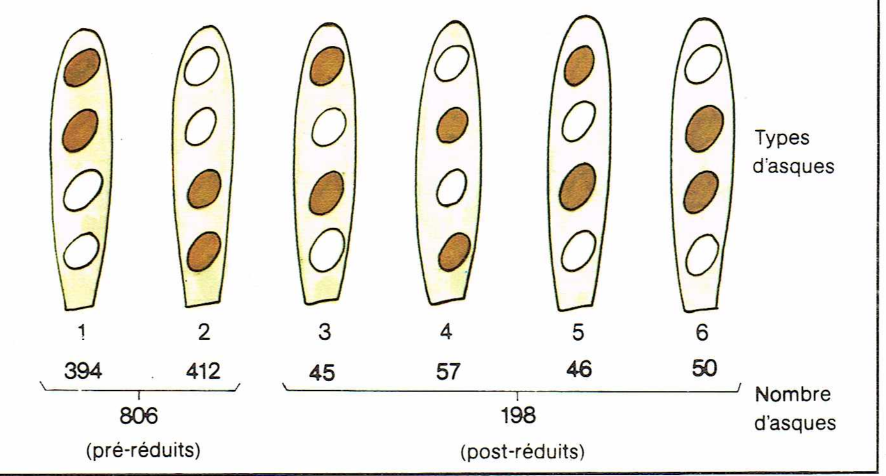
Ségrégations indépendantes

Qu'observe-t-on lorsque l'on croise deux souches qui diffèrent non plus par un seul, mais par deux couples de caractères alternatifs? Comment les couples d'allèles vont-ils ségréger l'un par rapport à l'autre? D'après ce

Richard Colin



◄ Représentation schématique de l'explication du phénomène de postréduction par un crossing-over.



Richard Colin

▲ Types d'asques obtenus dans un croisement b × b⁺ : bien que les asques contiennent 8 spores, on n'en a représenté que 4. La représentation des 8 spores n'apporte pas d'informations supplémentaires en ce qui concerne la ségrégation des allèles b et b⁺, car la mitose postméiotique n'a pour effet que de donner deux exemplaires de chacun des produits de la méiose.

qu'on a vu du devenir des chromosomes au cours de la méiose, on doit s'attendre que les ségrégations de deux couples d'allèles localisés sur des paires chromosomiques se comportent comme les chromosomes qui les portent, c'est-à-dire comme deux événements indépendants.

Prenons un exemple concret pour vérifier expérimentalement cette hypothèse. Chez l'Ascomycète *Ascobolus immersus*, les asques ne sont pas ordonnés. Ils contiennent huit ascospores ovales et brun foncé. On connaît des souches mutantes dont les spores sont blanches [b], et d'autres dont les spores sont rondes [r]. Nous allons effectuer un croisement entre une souche à spores blanches et une souche à spores rondes : [b] × [r].

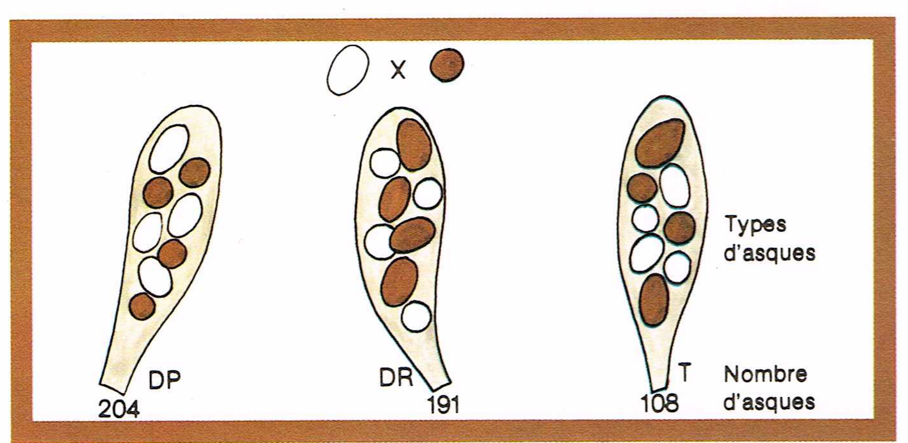
— Considérons, dans un premier temps, les couples de caractères alternatifs séparément.

D'abord la *couleur* des spores : une spore peut être soit brune [b^+], soit blanche [b], mais pas les deux, ni de phénotype intermédiaire : il s'agit bien de caractères qui s'excluent mutuellement dans un produit haploïde. Quelle est la ségrégation de ce couple de caractères? Dans *tous* les asques issus de croisement, on observe 4 spores [b] et 4 spores [b^+], quelle que soit la forme des spores. On obtient donc, pour la coloration des spores, la ségrégation 1:1, caractéristique d'un couple d'allèles. Nous allons, par conséquent, considérer que, dans ce croisement, la couleur des spores dépend d'un couple d'allèles b et b^+. Et cela, jusqu'à preuve du contraire. Si l'on envisage ensuite la question de la forme des spores, le même raisonnement que ci-dessus permet de constater que, chaque asque étant composé de 4 spores rondes [r] et de 4 spores ovales [r^+], ce caractère présente une ségrégation 1:1. On peut donc considérer qu'il dépend, lui aussi, d'un couple d'allèles r et r^+.

Nous pouvons dès maintenant écrire le génotype des deux souches parentales : la souche à spores blanches [b] et ovales [r^+] devait porter les allèles b, r^+, et la souche à spores brunes [b^+] et rondes [r] devait porter les allèles b^+, r. Les deux parents diffèrent donc par deux couples d'allèles. C'est ce que Mendel appelait le *dihybridisme*.

Si l'on considère maintenant les phénotypes des descendants de ce croisement, on constate qu'ils sont au nombre de *quatre*. On trouve des spores ovales et blanches [b, r^+] comme un des parents, des spores brunes et rondes [b^+, r] comme l'autre parent. On observe aussi deux nouveaux types : des spores brunes et ovales [b^+, r^+] et des spores blanches et rondes [b, r]. Les génotypes correspondants sont respectivement b, r^+; b^+, r; b^+, r^+ et b, r. Les deux premiers, identiques à ceux des parents, sont appelés *parentaux*. Les derniers, qui sont nécessairement issus de réassociations entre les caractères, sont appelés *recombinés*.

En observant maintenant comment ces différents types de spores sont groupés dans les asques, nous pouvons grouper les asques en trois classes. Il y a d'abord des asques qui contiennent quatre spores blanches et ovales et quatre spores brunes et rondes; ces asques, qui contiennent quatre spores identiques à l'un des parents et quatre spores identiques à l'autre parent, sont appelés *ditypes parentaux* (DP). Il y a, ensuite, d'autres asques, qui contiennent quatre spores brunes et ovales et quatre spores blanches et rondes; les deux types de spores qu'ils contiennent sont recombinés. Ces asques sont appelés *ditypes recombinés* (DR). Enfin, le dernier type d'asque contient les quatre types de spores : deux spores [b, r^+], deux spores [b^+, r], deux spores [b^+, r^+] et deux spores [b, r]. De tels asques sont dits *tétratypes* (T) [voir schéma p. 250 en haut].



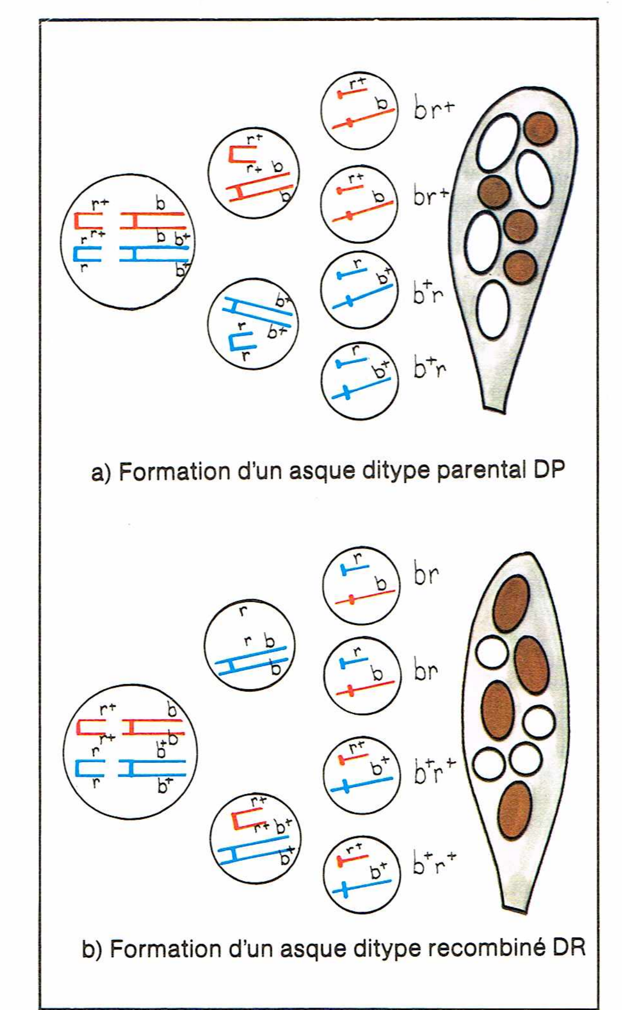
Richard Colin

▲ *Types d'asques obtenus dans un croisement* [*b*] × [*r*] *chez* Ascobolus immersus : DP, *ditype parental;* DR, *ditype recombiné;* T, *tétratype.*

▼▶ *Ci-contre, tableau récapitulatif des résultats d'un croisement de spores* [*b*] × [*r*]. *En bas, schéma explicatif de la formation des asques* DP *et* DR *lors d'un croisement* [*b*] × [*r*].

Types d'ascospores	Phénotypes	Génotypes	Effectifs	Pourcentages
Parental	$[br^+]$	$b\,r^+$	1032	25,6 %
Parental	$[b^+r]$	b^+r	1032	25,6 %
Recombiné	$[b^+r^+]$	b^+r^+	980	24,4 %
Recombiné	[br]	b r	980	24,4 %
		Totaux	4024	100 %

Richard Colin



a) Formation d'un asque ditype parental DP

b) Formation d'un asque ditype recombiné DR

Richard Colin

Nous pouvons à présent déterminer comment deux couples d'allèles ségrègent l'un par rapport à l'autre, en calculant la fréquence des différentes associations génotypiques qui apparaissent dans le croisement (tableau à gauche, au centre). Les effectifs des différents cas sont obtenus en totalisant toutes les spores présentant un génotype donné, sans tenir compte du type d'asque d'origine. Par exemple, pour le type parental à spores blanches et ovales [b, r+], il y en a 4 dans chaque asque DP (soit 204 × 4 = 816) et 2 dans chaque asque T (soit 108 × 2 = 216), c'est-à-dire en tout 816 + 216 = 1 032, ce qui représente la proportion suivante :

$$\frac{1\,032}{4\,024} \times 100 = 25{,}6\ \%.$$

Compte tenu des fluctuations aléatoires, un test statistique permet de dire que les proportions observées ne sont pas significativement différentes de 1/4 (25 %). On peut aussi dire qu'on a autant de produits parentaux que de produits recombinés (P = R), ou encore que le pourcentage de recombinaison est de

$$100 \times \frac{R}{P + R} = 50\ \%.$$

On peut donc dire soit que chacun des types de spores est également fréquent, soit que la formation de l'un ou l'autre des types de spores est également probable (p = 0,25). Cela revient à dire qu'un allèle donné du gène B, par exemple *b*, a autant de chances d'être associé à un allèle donné de R (par exemple, *r*) qu'à l'autre allèle (dans ce cas, r^+) : il y a donc autant de *b*, *r* que de b^+, r^+. Comme la ségrégation de b/b^+ est 1:1, on a l'égalité suivante :

$$\text{fr. } b, r = \text{fr. } b, r^+ = \text{fr. } b^+, r = \text{fr. } b^+, r^+ = 0{,}25.$$

Ce résultat confirme la loi de probabilité de deux événements indépendants : si l'on considère une spore, on a une chance sur deux (p = 0,5) qu'elle soit blanche et une chance sur deux qu'elle soit brune. De même, il y a une chance sur deux qu'elle soit ronde et une chance sur deux qu'elle soit ovale. Si les événements sont indépendants, la probabilité qu'une spore soit à la fois brune et ronde est p = 0,5 × 0,5 = 0,25, c'est-à-dire le *produit* des probabilités des deux événements.

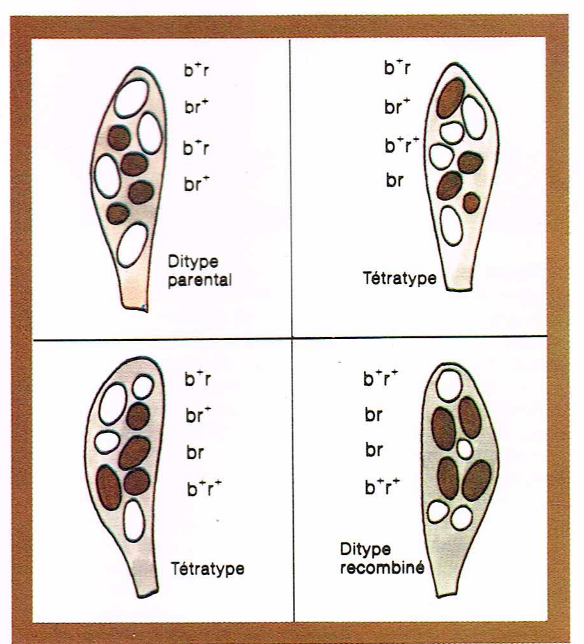
En résumé, on peut dire que si au cours d'un croisement on observe un pourcentage de recombinaison de 50 %, c'est que les ségrégations des deux couples d'allèles sont indépendantes. Dans le langage génétique, on dira plus simplement que *les gènes sont indépendants*.

Ditypes et tétratypes

Maintenant que nous avons étudié les fréquences des différentes spores considérées *en vrac*, nous allons essayer d'expliquer les différents types d'asques. En effet, si les spores étaient réunies au hasard par groupes de huit dans les asques, on obtiendrait un nombre très grand de possibilités, équivalent au nombre de combinaisons que peuvent présenter les quatre types de spores prises au hasard, huit à huit. Or, on n'observe que trois combinaisons possibles (asques DP, DR et T). Les contraintes qui aboutissent à cette limitation des possibilités sont le déroulement de la méiose et de la mitose postméiotique d'une part et la ségrégation 1:1 de chaque couple d'allèles d'autre part. Le premier paramètre est invariable et ne permet donc pas d'expliquer les *différences* entre les trois catégories d'asques. Elles proviennent donc forcément des différentes modalités possibles de la ségrégation : soit à la division I (préréduction), soit à la division II (postréduction). On a vu plus haut que les ségrégations des deux couples d'allèles sont indépendantes.

— *Premier cas :* les couples d'allèles b/b^+ et r/r^+ sont préréduits. Dans cette éventualité, un demi-asque est homogène pour un couple d'allèles donné : soit uniquement *b*, soit uniquement b^+, ou encore, soit uniquement *r*, soit uniquement r^+. Par conséquent, les quatre spores d'un demi-asque seront identiques, ce qui conduit à la formation d'asques ditypes et exclut totalement les asques tétratypes. Le schéma ci-contre montre que, si les deux couples d'allèles sont préréduits, on ne peut obtenir que des asques DP et des asques DR. Comme les ségrégations sont indépendantes, chacun des deux types est également probable.

— *Deuxième cas :* un des couples d'allèles est préréduit, l'autre postréduit. Il existe deux possibilités : ou b/b^+ est préréduit et r/r^+ postréduit, ou l'inverse. Les schémas (figure ci-contre) montrent que le résultat est identique, et que ce résultat consiste en la formation d'un asque tétratype T. Comme on l'a vu précédemment, la postréduction d'un couple d'allèles résulte d'un crossing-over entre le locus du gène et le centromère du chromosome qui le porte.



Richard Colin

— *Troisième cas :* les deux couples d'allèles sont postréduits. Les schémas ci-dessus montrent qu'il en résulte finalement trois types d'asques : des DP, des DR et des T, ces derniers pouvant être produits de deux façons. Les fréquences relatives seront donc 1/4 de DP, 1/4 de DR, 1/2 de T.

Il est possible, en appelant x la fréquence de postréduction du couple d'allèles b/b^+ et $(1 - x)$ sa fréquence de préréduction, et en désignant par y la fréquence de postréduction du couple d'allèles r/r^+ et par $(1 - y)$ sa fréquence de préréduction, de donner une formulation mathématique du problème. On n'oubliera pas que les ségrégations des couples d'allèles sont des événements indépendants et qu'il est possible de traiter leurs fréquences comme des probabilités.

Dans le premier cas (préréduction de b/b^+ et de r/r^+), la fréquence est $(1 - x)\ (1 - y)$. Il se forme alors 1/2 de DP et 1/2 de DR. La fréquence du deuxième cas est $x\ (1 - y) + y\ (1 - x)$ (préréduction d'un des couples associée à la postréduction de l'autre et inversement) ; il se forme des tétratypes T. La fréquence du troisième cas (deux postréductions) est xy, et il se forme 1/2 de T, 1/4 de DP et 1/4 de DR.

Nous pouvons maintenant exprimer la fréquence des ditypes parentaux :

$$\text{fr. (DP)} = 1/2\ (1 - x)(1 - y) + 1/4\ xy;$$

la fréquence des ditypes recombinés est identique :

$$\text{fr. (DR)} = 1/2\ (1 - x)(1 - y) + 1/4\ xy,$$

et, enfin, la fréquence des tétratypes est :

$$\text{fr. (T)} = x(1 - y) + y\ (1 - x) + 1/2\ xy.$$

On vérifie facilement que la somme de ces trois fréquences est :

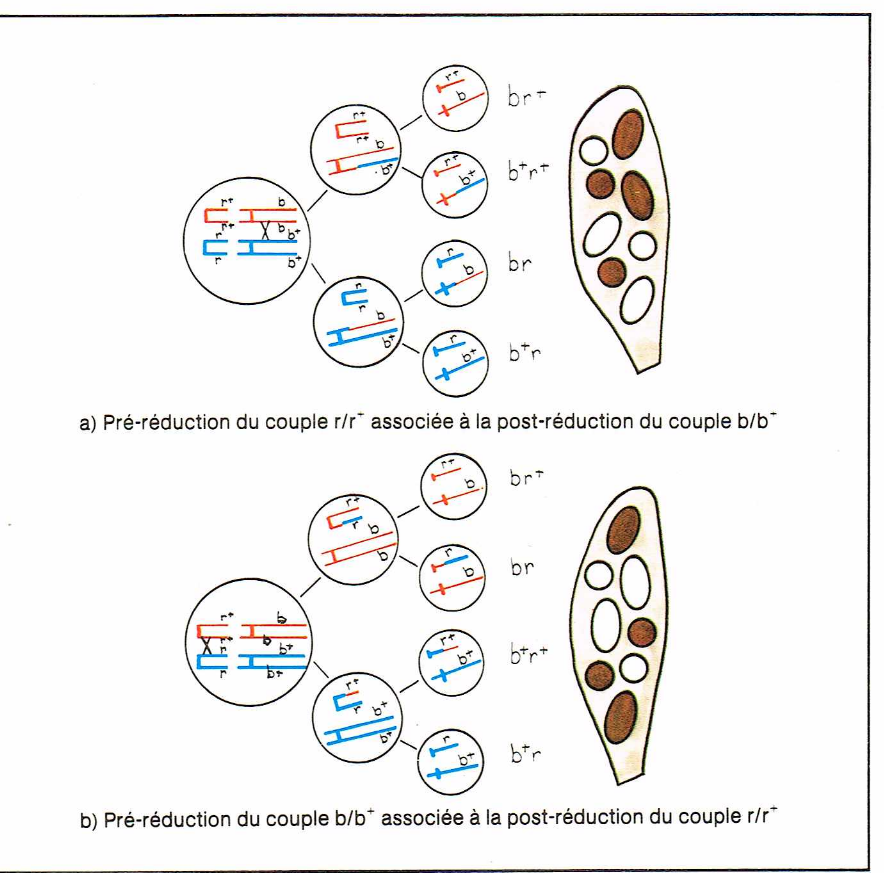
$$\text{fr. (DP)} + \text{fr. (DR)} + \text{fr. (T)} = 1.$$

Comme on connaît les valeurs numériques (fréquences observées) de fr. (DP) (0,40) et de fr. (T) (0,20), on peut tirer d'un tel croisement une expression de x en fonction de y telle que si :

$$x = 0,\ y = \text{fr. (T)} = 0{,}20$$

et si :

$$y = 0,\ x = \text{fr. (T)} = 0{,}20.$$



a) Pré-réduction du couple r/r^+ associée à la post-réduction du couple b/b^+

b) Pré-réduction du couple b/b^+ associée à la post-réduction du couple r/r^+

Richard Colin

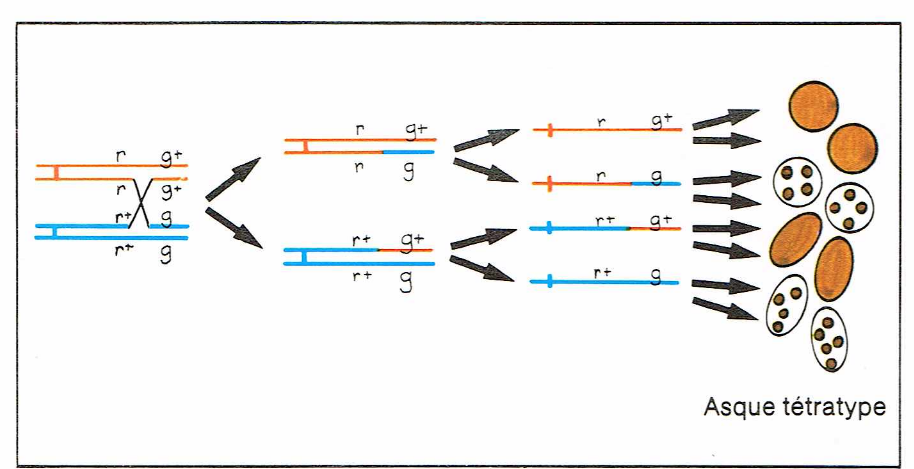
▲ *A gauche, types d'asques obtenus à la suite de* **doubles postréductions ;** *on obtient : 1/4 de DP ; 1/4 de DR et 1/2 de T. A droite, représentation schématique de la formation des* **asques tétratypes.**

La liaison

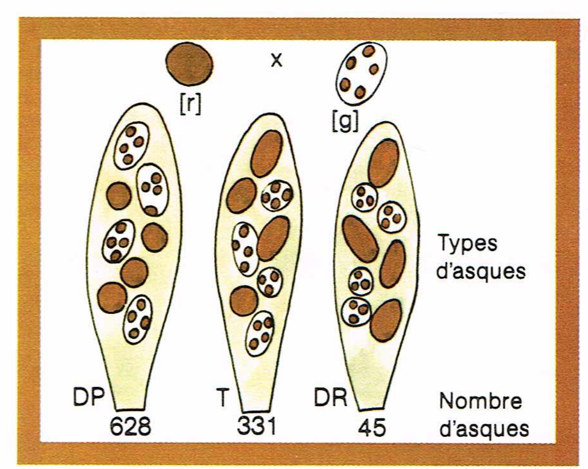
Si l'on effectue de nombreux croisements entre souches différant par d'autres caractères, on s'aperçoit que, en ce qui concerne le nombre relatif de spores parentales et de spores recombinées, les résultats varient selon les couples de caractères qui sont en jeu, et peuvent se ranger en deux catégories : d'abord fr. (P) = fr. (R) (c'est la situation qui a été exposée précédemment ; elle permet de conclure à *l'indépendance* des deux gènes) ; on rencontre aussi, fréquemment, fr. (P) > fr. (R), (dans ce cas la fréquence de recombinaison $\frac{R}{P + R}$ est inférieure à 50 %). Tout se passe comme s'il existait une force contraignant les allèles à conserver préférentiellement les associations qu'ils avaient dans les souches parentales. On dit alors que les couples d'allèles sont *liés,* par opposition avec l'état d'indépendance, et on parle de *liaison* (en anglais *linkage*).

La liaison de deux caractères a été observée par les Anglais Bateson et Punett, dès 1906, c'est-à-dire très peu de temps après la redécouverte des lois de Mendel. Morgan, en 1910, pour expliquer ces résultats apparemment anormaux, a postulé que les paires d'allèles qui ne ségrègent pas indépendamment sont physiquement *liées* grâce à leur localisation *sur le même chromosome.* Il a imaginé aussi que des produits recombinés pouvaient cependant apparaître grâce au crossing-over.

Pour permettre une bonne compréhension du phénomène, nous allons décrire un exemple de croisement. Reprenons l'Ascomycète *Ascobolus immersus.* Chez cet organisme, il existe des souches mutantes à spores granuleuses [g]. Ce phénotype provient du fait que le pigment ne se dépose pas uniformément sur la paroi des spores, mais sous forme de granules, alors que dans la souche « sauvage » les spores sont brun uni [g^+]. On effectue un croisement avec la souche à spores rondes précédemment utilisée : [g] × [r], et les résultats sont regroupés dans la figure ci-après à droite. On remarque que chaque couple de caractères montre une ségrégation 1:1. Dans tous les asques, on a quatre spores granuleuses [g] et quatre spores lisses [g^+] d'une part, et quatre spores rondes [r] et quatre spores [r^+] pour l'autre couple de caractères. On peut considérer que chaque



Richard Colin



Richard Colin

▲ *A gauche, formation d'asques* **tétratypes** *lors d'un croisement entre* **gènes liés.** *A droite, croisement bifactoriel chez* **Ascobolus immersus :** *les gènes* **r** *et* **g** *sont liés (DP > DR).*

caractère dépend d'un couple d'allèles : g/g^+ et r/r^+. Le génotype du parent [g] est g, r^+ ; celui du parent [r] est g^+, r.

On voit aussi qu'on a quatre types de spores, deux types parentaux : spores granuleuses ovales et lisses rondes, et deux types recombinés : spores lisses ovales et granuleuses rondes. Si l'on calcule le pourcentage de produits recombinés $\left(\frac{R}{P + R} \times 100\right)$,

on obtient $\frac{331 \times 4 + 45 \times 8}{1\,004 \times 8} \times 100 \simeq 21$ %.

Comme on peut le constater, ce résultat est loin des 50 % qu'on observe dans le cas de l'indépendance. Reprenons à notre compte l'hypothèse de Morgan et plaçons les deux gènes concernés sur le même chromosome. Dans ce cadre, comment expliquer les trois types d'asques DP, T et DR ? Les parents du croisement ont comme génotype : g, r^+ et g^+, r.

Dans un asque DP, on trouve quatre spores g, r^+ et quatre spores g^+, r : les associations parentales sont intégralement conservées, et il n'est pas nécessaire de faire intervenir des remaniements chromosomiques pour expliquer ces asques ; ceux-ci sont les plus nombreux, puisque la liaison est définie par la tendance des associations génotypiques parentales à se conserver.

Dans un asque tétratype T, il y a deux produits parentaux et deux produits recombinés. Pour expliquer la formation de ces derniers, il faut imaginer un remaniement chromatidique entre les *loci* des deux couples d'allèles. Ainsi, la façon la plus simple d'expliquer l'apparition de produits recombinés est d'imaginer qu'il se produit un crossing-over entre une chromatide d'un chromosome et une chromatide de son homologue. Remarquons aussi qu'un crossing-over qui se produirait en dehors du segment chromosomique compris entre le locus des allèles r et r^+ et le locus des allèles g et g^+ ne conduirait en aucune façon à l'apparition de produits recombinés.

Dans un asque ditype recombiné DR, tous les produits sont recombinés : cela signifie que les *quatre chromatides* présentes en prophase de division I ont subi un remaniement. Cela suppose au moins deux crossing-over. Il faut, de plus, que le deuxième crossing-over touche les deux chromatides laissées intactes par le premier, ainsi que le montre la figure ci-contre. Dans ce même schéma, on peut voir que si les deux crossing-over n'intéressent que trois chromatides (une chromatide reste intacte), l'asque produit est un tétratype ; si les deux crossing-over intéressent deux chromatides seulement (deux chromatides demeurent intactes), l'asque résultant est un ditype parental DP. Si les deux crossing-over sont des événements indépendants, ils produiront 1/2 de T, 1/4 de DP et 1/4 de DR. D'autre part, si x est la probabilité de l'événement « un crossing-over entre les *loci* R et G », la fréquence des doubles crossing-over sera x^2.

Nous sommes à présent en possession de tous les éléments qui vont nous permettre de calculer la distance entre les loci R et G.

Le nombre total de chromatides (4 à l'origine de chaque asque) est de $4 \times 1\,004 = 4\,016$. Le nombre de remaniements chromatidiques est de 4 à l'origine de chaque asque DR, soit $45 \times 4 = 180$. Cependant, les asques DR ne représentent que 1/4 des cas de doubles crossing-over. On peut estimer au même nombre (45) les asques DP, au double (90) les asques T qui proviennent du même événement. Le nombre estimé de remaniements dus à deux crossing-over est donc de $180 \times 4 = 720$. Il reste $331 - 90 = 241$ asques T qui proviennent d'un unique crossing-over, et ceux-ci représentent $241 \times 2 = 482$ remaniements chromatidiques.

Le nombre total estimé de ces remaniements est donc : $482 + 720 = 1\,202$. Par conséquent, la distance est $\frac{1\,202}{4\,016} \times 100 = 29{,}7$ centimorgans. Notons que si l'on avait négligé d'effectuer une correction en tenant compte du nombre estimé de doubles crossing-over, on aurait gravement sous-estimé la distance. Le calcul aurait alors donné, pour les remaniements :

$$(331 \times 2) + (45 \times 4) = 842,$$

et la distance aurait été de :

$$\frac{842}{4\,016} \times 100 = 20{,}9 \text{ unités.}$$

La sous-estimation aurait été de 9 centimorgans, ce qui aurait représenté presque 30 % d'erreur !

▼ *Types d'asques obtenus après* **deux crossing-over** *se produisant* **entre** **gènes liés :** *on obtient : 1/4 DP ; 1/4 DR ; 1/2 T.*

Asque ditype recombiné

Asque ditype parental

Asque tétratype

Richard Colin

Les groupes de liaison

La constance de la fréquence de postréduction pour chaque couple d'allèles et la constance de la fréquence de recombinaison entre deux gènes liés montrent que chaque gène occupe, sur le chromosome, une place fixe, son locus. Ce fait permet, comme chez les Bactéries, d'ordonner les gènes les uns par rapport aux autres et de dresser des *cartes génétiques*. Nous avons vu aussi qu'il peut se produire des crossing-over entre points homologues d'une paire de chromosomes. Le crossing-over a une probabilité déterminée de se produire entre le centromère et un locus donné du chromosome, ou entre les loci de deux gènes portés par le même chromosome. En d'autres termes, à chaque segment de chromosome correspond une certaine fréquence de crossing-over. Cela permet de déduire une *fréquence de recombinaison qui mesure les distances sur la carte génétique*.

On définit un *groupe de liaison* comme un ensemble de gènes qui apparaissent liés entre eux et indépendants de tous les autres gènes. Le support matériel d'un groupe de liaison est un chromosome. Chez les organismes qui sont très étudiés et chez lesquels on connaît beaucoup de gènes, le nombre de groupes de liaison qu'on peut mettre en évidence est égal au nombre de chromosomes caractéristiques de l'espèce. Chez l'Ascomycète *Neurospora crassa*, par exemple, on constate l'existence de sept groupes de liaison, et l'examen cytologique permet de voir, à la méiose, sept paires de chromosomes.

Comment établit-on une carte génétique ? Nous avons vu qu'il est facile de calculer la distance d'un locus à son centromère chez un organisme où les asques sont ordonnés. Mais nous savons maintenant que l'on n'a pas tenu compte de crossing-over multiples (doubles, triples, ou plus encore). C'est pourquoi les distances ainsi calculées sont erronées : elles sont d'autant plus sous-estimées que la distance est grande. Cela signifie que seules les très petites distances (telles que des crossing-over multiples ont une probabilité négligeable de se produire) sont mesurées exactement. D'autre part, ce critère ne permet pas d'ordonner l'un par rapport à l'autre deux loci très proches, qui auront des pourcentages de postréduction très voisins, compte tenu du caractère aléatoire de l'événement de recombinaison, ainsi que des fluctuations statistiques de la fréquence observée.

Supposons que dans un croisement deux gènes A et B sont liés et que la distance entre A et B est de 5 unités de recombinaison : A←5→B ; un deuxième croisement montre que le gène A et un troisième gène C sont liés, et distants de 7 unités : A←7→C. Il y a deux possibilités pour arranger les gènes linéairement :

(1) C←7→A←5→B (←12→) et (2) A←5→B C (←7→ ; ←2→)

si un croisement impliquant à la fois les gènes C et B donne une distance de 12 unités, c'est l'ordre (1) qui est le bon, mais si le croisement donne une distance de 2 unités, c'est l'ordre (2) qui est exact. Cette méthode simple permet d'ordonner linéairement les gènes le long des cartes génétiques. Elle permet, en outre, de voir que *les distances sont additives*. Mais cela n'est vrai que si les gènes sont relativement proches les uns des autres, ce qui élimine les effets de la sous-estimation mentionnée plus haut. En effet, plus une distance est grande, plus sa mesure par cette méthode est inférieure à la réalité, et la somme observée de deux distances tend à devenir nettement inférieure à la somme calculée. D'autre part, si deux des gènes sont très proches, cette méthode ne permettra pas de les ordonner.

De tout ce qui vient d'être dit il ressort que les croisements monofactoriels (où un seul couple d'allèles est en ségrégation) et bifactoriels (impliquant deux couples d'allèles) sont insuffisants pour établir sans ambiguïté l'ordre des gènes le long du chromosome.

Le test à trois points

La méthode qui permet d'établir les ordres respectifs des loci est un croisement à trois facteurs (trois couples d'allèles), ou *test à trois points*. Nous allons prendre un exemple abstrait pour le raisonnement. Il est possible, en effet, de considérer les couples d'allèles non comme responsables d'une indispensable fonction cellulaire, mais seulement comme des *marqueurs génétiques*, c'est-à-dire comme des points sur les cartes génétiques.

▼ **Chromosomes géants** ***observés dans des cellules de glandes salivaires de larve de chironome (Diptère). Ce type de matériel est fréquemment utilisé en laboratoire car il permet d'établir facilement des concordances entre les cartes génétiques et les chromosomes.***



Nuridsany - Reichert

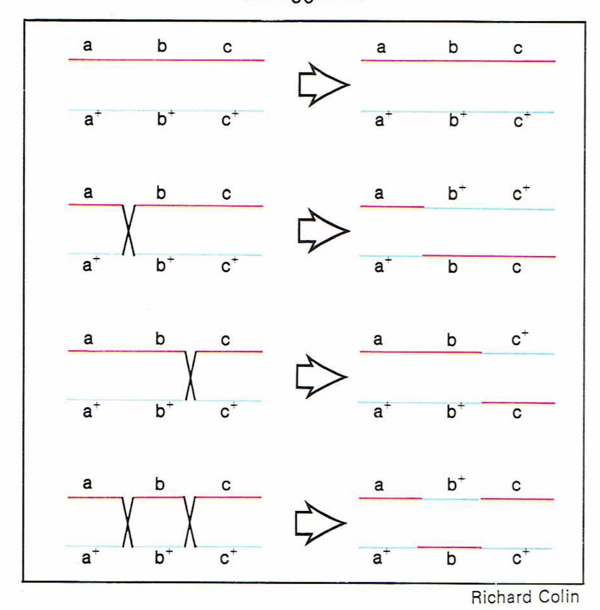
Soit trois gènes liés A, B, C, qui peuvent se présenter chacun sous deux formes alléliques a et a^+, b et b^+ et c et c^+. Un croisement à trois facteurs sera un croisement du type $a, b, c \times a^+, b^+, c^+$, ou encore $a, b^+, c \times a^+, b, c^+$, ou toute autre combinaison génotypique. Il suffit que la cellule diploïde qui subit la méiose soit hétérozygote pour les trois couples d'allèles. Dans la descendance de tels croisements, il existe huit génotypes possibles, dont six sont des associations recombinées. Si le croisement est $a, b, c, \times a^+, b^+, c^+$, on pourra trouver, outre les deux associations parentales, les génotypes recombinés suivants : a, b, c^+ ; a^+, b^+, c ; a, b^+, c ; a^+, b, c^+ ; a^+, b, c, et a, b^+, c^+. Le principe du test est le suivant : l'association recombinée qui sera présente avec la plus faible fréquence est celle qui nécessite au moins deux crossing-over pour se réaliser. C'est-à-dire que *l'allèle différant de l'association parentale est celui du gène qui est entre les deux autres.*

Il existe trois ordres possibles : A au milieu de B et C, B au milieu de A et C, et C au milieu de A et B. Si l'ordre est A-B-C, aucun crossing-over n'est nécessaire pour obtenir les associations parentales, et celles-ci seront majoritaires puisque les gènes sont liés. Pour obtenir les recombinés, a, b^+, c^+ et a^+, b, c, il suffit d'un crossing-over dans la région II (entre B et C). Mais pour obtenir les recombinés a, b^+, c et a^+, b, c^+, il faut au moins deux crossing-over, l'un dans la région I et l'autre dans la région II. C'est évidemment ces dernières associations qui seront les moins fréquentes. Si l'ordre des gènes est A-C-B, ce sont les recombinés a, b, c^+ et a^+, b^+, c qui seront les moins fréquents, et si l'ordre est C-A-B, les recombinés minoritaires seront a, b^+, c^+ et a^+, b, c. On voit qu'au cours d'un test à trois points entre gènes liés il suffit de noter quelles associations recombinées sont les moins fréquentes pour en déduire avec certitude l'ordre des marqueurs génétiques utilisés. Cette méthode est très sûre et parfaitement universelle : on peut l'utiliser aussi bien chez les virus, les Bactéries, les plantes et les animaux supérieurs.

Des gènes indépendants sur le même chromosome

Il peut arriver que des gènes soient disposés de telle façon sur un chromosome que la distance qui les sépare soit de 50 unités de recombinaison. Cela signifie qu'au cours d'un croisement il va apparaître autant de produits recombinés que de produits parentaux. Si c'est la seule information dont on dispose, on conclura à leur indépendance, et on sera alors tenté de les placer sur des chromosomes différents. Cette situation se produit fréquemment. Heureusement, la plupart du temps, on dispose d'autres marqueurs génétiques, qui permettent de localiser des gènes génétiquement indépendants sur le même support matériel (chromosome) si ces deux gènes sont liés tous les deux à un troisième gène :

A C B
←30→←20→
←——50——→



Richard Colin

▶ ***Représentation schématique du test à trois points : on n'a représenté ici que deux chromatides sur les quatre : celles qui subissent le crossing-over.***

On voit qu'il est possible qu'une distance génétique soit supérieure à 50 unités de recombinaison. Par exemple, si la distance A-B est de 35 unités, la distance B-C de 30 unités, et si l'on est certain que B est entre A et C, la distance calculée doit être de 65 unités de recombinaison. Or, si l'on effectue un croisement impliquant les gènes A et C, on observe un pourcentage de recombinés

$$\frac{R}{P + R} \times 100 = 50 \ \%.$$

Pour comprendre ce fait apparemment paradoxal, il faut se souvenir de l'existence de crossing-over multiples, d'autant plus nombreux que les distances sont grandes ; les distances génétiques sont d'autant plus sous-estimées qu'elles sont plus grandes. Cela fait qu'il existe une limite au pourcentage de recombinaisons *observées* ; cette limite est de 50 %. On peut l'expliquer d'une façon plus imagée qu'une formule mathématique : lorsque la distance est très grande, il se produit beaucoup de crossing over qui se distribuent au hasard, de telle sorte que les extrémités du très long segment chromosomique considéré ségrègent indépendamment l'une de l'autre. Si l'une des bornes du segment est marquée par un couple d'allèles a/a^+, et l'autre par b/b^+, on peut dire que l'allèle a aura autant de chances d'être associé à b qu'à b^+ dans les produits de méiose. Cela correspond bien à 50 % de produits recombinés et 50 % de produits parentaux.

Il est naturellement possible d'effectuer des corrections pour calculer, à partir du pourcentage observé, une distance estimée qui représentera mieux la distance réelle. Et cela, d'autant mieux qu'il sera possible d'effectuer des croisements impliquant des allèles de loci situés entre les deux loci extrêmes. Ce type de calculs a permis d'estimer la longueur totale de groupes de liaison.

Par exemple, la longueur du premier groupe de liaison de *Neurospora crassa* est environ de 150 unités. On ne peut pas cependant se servir de distances calculées en unités de recombinaison pour effectuer des comparaisons entre organismes différents, car cela supposerait que la probabilité d'un crossing-over soit exactement la même chez toutes les espèces. Or, on possède un certain nombre d'arguments qui démontrent le contraire, et qui semblent même indiquer que cette probabilité varie à l'intérieur d'une espèce donnée, d'un sexe à l'autre, d'un chromosome à l'autre, voire entre deux segments du même chromosome. Ces phénomènes seront envisagés dans le chapitre qui traitera de la *régulation* de la méiose et du crossing-over.

L'interférence

Lorsque nous avons étudié le mode de calcul des distances génétiques, nous avons introduit des corrections destinées à compenser la sous-estimation des distances due à la présence de crossing-over multiples. Nous avons alors admis que la probabilité d'un double crossing-over était le carré de la probabilité d'un simple crossing-over. L'idée qui est à la base de ce calcul est que les crossing-over sont des événements indépendants les uns des autres.

Il est possible d'effectuer des expériences destinées à vérifier ou infirmer cette hypothèse. Le principe en est d'avoir, le long d'un segment chromosomique sur lequel on va observer la fréquence des crossing-over, le plus grand nombre de marqueurs génétiques le plus rapprochés possible. De cette façon, on « découpe » le chromosome en segments suffisamment petits pour que la fréquence des doubles crossing-over y soit négligeable, alors qu'elle est grande entre les marqueurs extrêmes du segment envisagé. Ces expériences ont pu être effectuées sur de nombreux organismes. Elles ont en général montré que le nombre observé de crossing-over était significativement différent de celui qu'on attendrait s'ils se produisaient indépendamment les uns des autres. On dit que les crossing-over *interfèrent* entre eux, ou qu'il y a *interférence chromosomique* (en anglais *chiasma interference*). L'interférence est définie par le fait que l'existence d'un crossing-over affecte la probabilité d'existence d'autres crossing-over. En l'absence d'interférence, la probabilité qu'il se produise n échanges dans un intervalle donné est fournie par un des termes de la distribution de Poisson (du nom du mathématicien français qui établit cette loi de probabilité) $\frac{m^n}{n!} \cdot e^{-m}$, où m est le nombre moyen d'échanges dans cet intervalle. Le tableau ci-après

Nombre de crossing-over	0	1	2	3	⩾ 4
Pourcentage observé	8	44	40	7	1
Pourcentage calculé	23	34	24	12	7

Richard Colin

◀ ***Tableau montrant que les pourcentages calculés d'après la loi de Poisson et ceux qui sont observés ne concordent pas : il y a* interférence.**

montre les différences qui existent entre les crossing-over observés et ceux prévus par le calcul de probabilité, au cours d'un croisement impliquant six marqueurs du premier groupe de liaison chez *Neurospora crassa*.

On voit clairement que la formation d'un crossing-over diminue la probabilité d'en trouver un autre. Cela favorise la présence de crossing-over simples (en augmentation par rapport à la loi théorique) aux dépens des crossing-over multiples (en diminution) : il y a donc interférence. Cette interférence est mesurée par un *coefficient de coïncidence,* qui exprime le rapport entre la fréquence observée de crossing-over simultanés et la fréquence prévue par le calcul dans l'hypothèse où l'interférence serait nulle.

Les explications proposées habituellement sur l'interférence sont de deux ordres. On peut tout d'abord dire que le crossing-over est un événement qui a une dimension, et qu'il provoque des déformations des chromatides appariées en prophase de division I, empêchant ainsi qu'un deuxième échange puisse se produire dans le voisinage du premier, simplement du fait de la configuration de l'appariement entre les chromatides, qui est un des éléments indispensables aux échanges. Le deuxième type d'arguments est d'ordre physiologique. Il faut supposer que le crossing-over, événement compliqué, requiert la présence d'un certain nombre de systèmes enzymatiques pour s'accomplir. La quantité relativement faible de ces enzymes et le fait qu'elles agissent seulement pendant un temps limité (fin du stade zygotène et début du stade pachytène) seraient peut-être responsables du petit nombre d'événements multiples qui se produisent.

De plus, il faut noter que, si l'interférence chromosomique est un phénomène fréquent, il existe de nombreuses exceptions. Il faut aussi souligner que les valeurs du coefficient de coïncidence sont très variables d'un organisme à l'autre, d'un chromosome à l'autre au sein d'une même espèce, et même d'une région à l'autre d'un chromosome.

Les anomalies de liaison

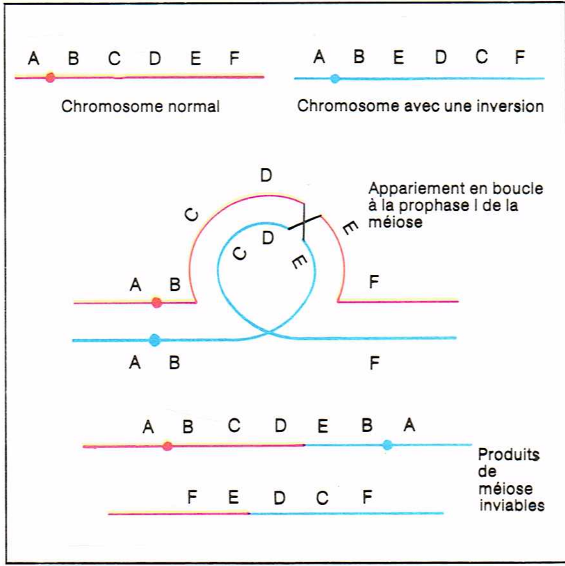
Il se produit de temps à autre des accidents soit au cours de la méiose, soit pendant la multiplication végétative, qui conduisent à des échanges de segments chromosomiques entre chromosomes non homologues, ou à l'intérieur d'un même chromosome. Il s'ensuit que dans les souches résultantes de tels événements on constate un *réarrangement de l'ordre des marqueurs génétiques*. Ces réarrangements sont principalement de deux types : les *inversions* et les *translocations*.

Les inversions sont des arrangements *intrachromosomiques*. Il n'y a pas de perte de matériel héréditaire, mais un segment chromosomique (porteur de marqueurs C, D et E) est inversé dans une souche par rapport à l'autre. La souche portant l'inversion est parfaitement viable, et rien ne la distingue de la souche d'origine jusqu'au moment où l'on effectue un croisement entre ces deux souches. S'il se produit un crossing-over dans la « boucle d'inversion » qui se forme pour permettre un appariement entre régions homologues, il aboutit à des chromatides non viables : l'une porte deux centromères et l'autre n'en a aucun. Les produits de méiose correspondants seront aussi non viables. Un croisement hétérozygote pour une inversion conduira à une forte létalité au niveau des produits de la méiose. Cette létalité sera d'autant plus fréquente que le nombre de crossing-over sera grand, c'est-à-dire qu'elle augmentera avec la taille de l'inversion.

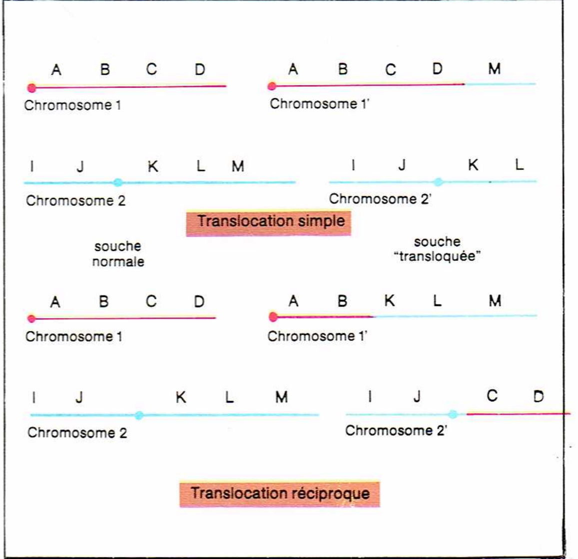
Les translocations sont des réarrangements *interchromosomiques*. La translocation est *simple* quand un segment chromosomique est transféré d'un chromosome à un autre qui n'est pas son homologue. Là non plus, il n'y a pas de perte de matériel héréditaire et la souche est viable. La translocation est dite *réciproque* quand il y a eu *échange* de segments chromosomiques entre chromosomes non homologues. Les souches portant des translocations réciproques sont aussi viables. De même que pour les inversions, à la suite de croisements hétérozygotes entre les souches transloquées et les souches d'origine, il apparaît une létalité des produits de la méiose.

Accidents chromosomiques et spéciation

Les inversions et les translocations forment ce qu'on appelle des *accidents chromosomiques*. Ceux-ci sont héréditaires, mais ne constituent cependant pas des mutations à proprement parler. Dans une souche portant un accident chromosomique, il n'y a pas de différence génotypique par rapport à la souche d'origine : les gènes sont tous présents ; ils ont simplement changé de place. Les groupes de liaison sont modifés d'une souche à l'autre : des gènes sont devenus indépendants et d'autres, indépendants auparavant, sont liés. De plus, ces souches montrent une notable diminution de production de spores quand on les croise avec les souches d'origine, à cause



Richard Colin



Richard Colin

◀ ***A gauche,* appariements en boucle, *lors d'un croisement entre une* souche normale *(chromosome rouge) et une* souche portant *une* inversion *(chromosome bleu). A droite, représentation schématique d'un accident chromosomique :* la translocation ; *celle-ci peut être* simple *ou* réciproque.**

H. Chaumeton - Jacana

▲ ***L'élevage de Drosophila melanogaster en laboratoire s'effectue dans des petites bouteilles de verre, dans lesquelles on dispose un milieu simple à préparer.***

d'une mortalité de produits de la méiose. Cela conduit à l'*isolement sexuel* de souches. Plus les souches vont accumuler des accidents chromosomiques, plus les croisements entre elles vont être difficiles, car les descendants seront presque tous non viables. Or, le phénomène de l'isolement sexuel est un des facteurs importants des mécanismes de la spéciation et de l'évolution. Cet isolement peut être géographique (îles, vallées très encaissées, etc.) ou dû à des réactions d'incompatibilité entre souches, ou encore, comme nous venons de le voir, provoqué par les accidents chromosomiques.

La génétique de la drosophile

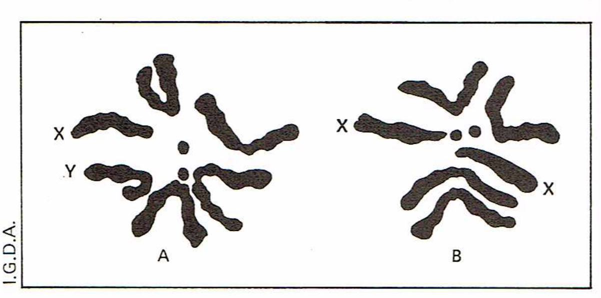
Avec la génétique des plantes supérieures et des animaux, est posé le problème de l'hérédité dans les espèces où la phase du cycle qui se prête à l'observation est *diploïde*. Nous avons déjà noté que la relation entre le phénotype et le génotype était moins évidente que chez les espèces à prédominance de la phase haploïde. Historiquement, c'est cependant chez ces organismes-là que le problème a été tout d'abord résolu, au moins dans ses grandes lignes. Grâce aux travaux des botanistes, c'est le monde végétal qui a livré aux savants les premiers secrets de l'hérédité. Cependant, ce type d'organisme est loin d'être l'organisme idéal pour l'étude en laboratoire. Celle-ci est définie par F. Jacob de la façon suivante : « L'expérimentation demande un matériel aux vertus exceptionnelles. Elle réclame un organisme suffisamment peu exigeant pour qu'on l'élève sans difficulté au laboratoire, suffisamment petit pour qu'on en manipule des populations importantes dans un espace réduit, suffisamment rapide à la reproduction pour qu'on en observe les générations successives dans un délai restreint. Les caractères doivent être aisés à observer, les amours fréquentes et la fertilité élevée. Ses cellules doivent se prêter à l'examen microscopique et le nombre de ses chromosomes être suffisamment peu élevé pour qu'on en repère les particularités. Cet oiseau rare existe : c'est la mouche. »

Cette mouche, comme on l'a vu dans les chapitres précédents, est un Diptère : *Drosophila melanogaster*, ou mouche du vinaigre (*fruit-fly* en anglais). On l'élève en laboratoire dans de petites bouteilles de verre, dans lesquelles on dispose un milieu simple à préparer. La drosophile ne mesure que quelques millimètres, se reproduit en une quinzaine de jours et une femelle pond plus de 100 œufs. Les caractères portant sur la couleur des yeux, la forme des ailes, le nombre et la forme des soies thoraciques sont très aisés à observer. Le nombre de chromosomes est de 8 dans les cellules diploïdes ($n = 4$). En outre, dans les glandes salivaires des larves, existent des chromosomes géants (chromosomes polytènes) qui peuvent permettre d'établir facilement des concordances entre les cartes génétiques et les chromosomes. Enfin, on peut distinguer les drosophiles mâles et femelles à l'œil nu. La drosophile est étudiée intensivement d'un point de vue génétique depuis plus d'un demi-siècle (Morgan) et continue à l'être.

Les chromosomes de la drosophile

Chez tous les animaux supérieurs, la garniture chromosomique présente une différence selon le sexe. Les mâles et les femelles diploïdes de la drosophile ont le même nombre de chromosomes ($2n = 8$), mais l'un d'entre eux a une forme différente selon le sexe. La forme spéciale, que l'on ne rencontre que chez le mâle, est appelée chromosome Y, le chromosome homologue étant appelé X. La femelle possède deux paires de chromosomes en forme de V, une paire de chromosomes en forme de point, et une paire de chromosomes en bâtonnet. Les trois premières paires ont leurs homologues chez le mâle. Cependant, chez ce dernier, la dernière paire de chromosomes est remplacée par une paire hétérogène : un bâtonnet et un chromosome en crochet. Les chromosomes des paires représentées de façon identique chez les mâles et les femelles sont appelés *autosomes*, et les chromosomes des paires qui ne sont pas semblables dans les deux sexes sont appelés *hétérochromosomes*, ou *chromosomes sexuels*. Chez la drosophile, mâles et femelles possèdent 6 autosomes et 2 chromosomes sexuels. Chez la femelle, les deux chromosomes en bâtonnet sont appelés chromosomes X; chez le mâle, le chromosome en bâtonnet est appelé X et le chromosome en crochet est appelé Y. Les formules chromosomiques peuvent être écrites simplement :

$$♂ : 2 \times (3\,A) + XY, \text{ et } ♀ : 2 \times (3\,A) + XX.$$

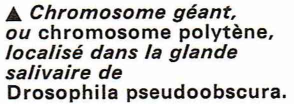


I.G.D.A.

▶ ***Représentation schématique de la garniture chromosomique de la drosophile : A, chez le mâle ; B, chez la femelle.***



P. Starosta



▲ ***Chromosome géant,*** ***ou*** **chromosome polytène,** ***localisé dans la glande salivaire de*** **Drosophila pseudoobscura.**

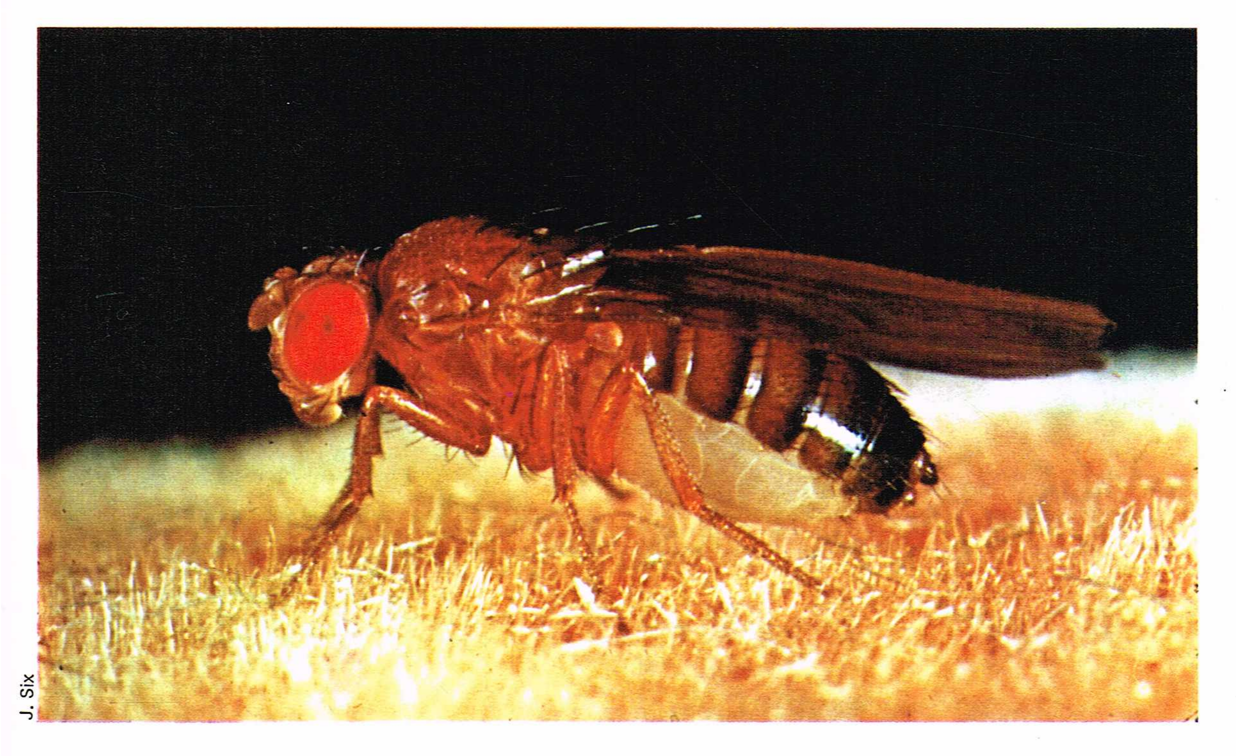
Lignées pures

Chaque mouche reçoit un chromosome paternel et un chromosome maternel pour chacune des paires. Si les parents portent des allèles différents pour un gène donné, tous les descendants seront hétérozygotes. On conçoit aisément que des drosophiles d'une population naturelle soient fortement hétérozygotes (c'est-à-dire hétérozygotes pour un grand nombre de loci). Si l'on veut effectuer des croisements dont les résultats soient reproductibles, il faut pouvoir disposer de souches qui gardent d'une génération à l'autre le même génotype, ce qui n'est pas le cas de mouches hétérozygotes. Il faut donc des souches qui soient homozygotes pour les gènes qui nous intéressent. De telles souches sont appelées *lignées pures*. Les souches « sauvages » que l'on utilise sont des lignées pures qui portent des allèles « sauvages » et les souches mutantes sont des lignées pures qui sont homozygotes pour les allèles mutants.

Ségrégation d'un couple d'allèles

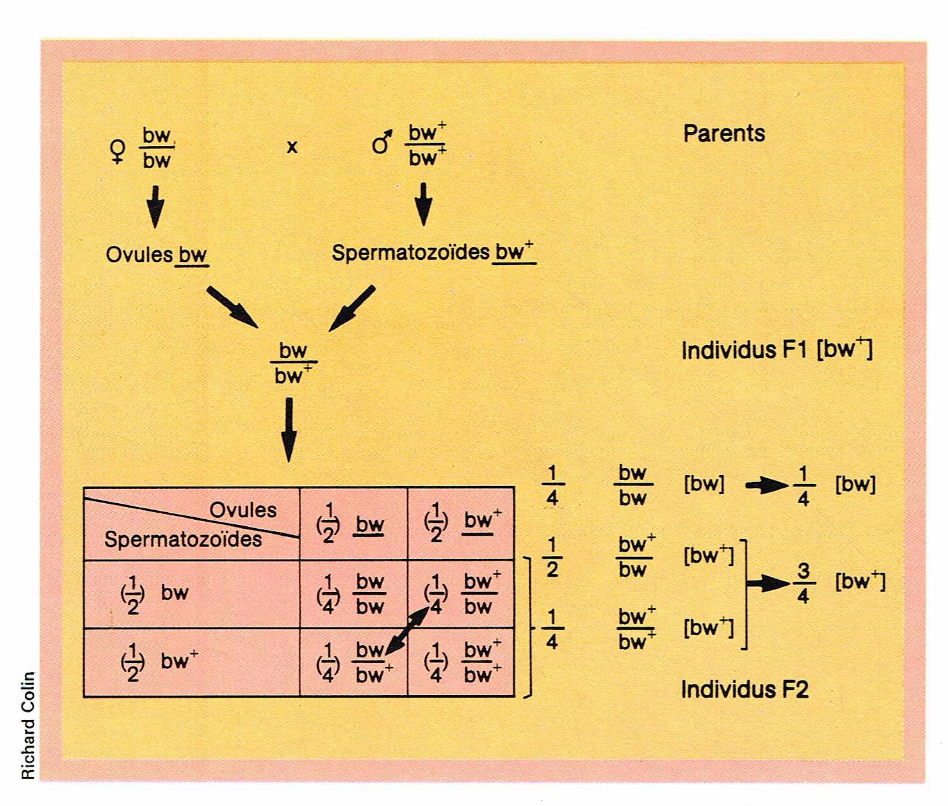
Effectuons un croisement entre une souche à yeux bruns, constituant le phénotype *brown* [bw] et une souche « sauvage » [bw^+], dont les individus ont les yeux rouges, en prenant soin de choisir des mouches de lignées pures, c'est-à-dire homozygotes pour les gènes concernés. On sait que les caractères alternatifs [bw] et [bw^+] dépendent d'un couple d'allèles *bw* et bw^+ situés sur le chromosome II. Le croisement s'écrit :

$$♀ \frac{bw}{bw} \times ♂ \frac{bw^+}{bw^+}.$$



J. Six

◀ ***Femelle de drosophile ; il s'agit ici d'une souche « sauvage » à yeux rouges.***



Richard Colin

▲ ***Croisement entre une mouche femelle à yeux bruns [bw] et une mouche mâle sauvage à yeux rouges [bw+].***

Les parents vont produire des gamètes haploïdes. La femelle produit des ovules *bw* et le mâle des spermatozoïdes *bw+*. Les individus de la première génération (les parents, quant à eux, représentent, conventionnellement, la génération zéro) vont résulter de la fécondation entre un ovule et un spermatozoïde; leur génotype sera donc nécessairement $\frac{bw}{bw^+}$. *Ils sont tous identiques.* L'observation montre bien que les individus F1 (de première génération) ont tous le même phénotype à yeux rouges [bw+]. Cela signifie que l'allèle mutant *bw* ne s'exprime pas et que c'est l'allèle « sauvage » *bw+* qui impose le phénotype. On dit que *bw+* est *dominant* sur *bw*. On peut obtenir une génération F2 (deuxième génération) en laissant les individus F1 se croiser entre eux au hasard; on écrit F2 (F1 × F1). Les individus F1 vont donner deux sortes de gamètes, aussi bien les mâles que les femelles. Les cellules mères des ovules, chez les femelles, et les cellules mères des spermatozoïdes, chez les mâles, sont hétérozygotes $\frac{bw}{bw^+}$. Elles subissent la méiose, et les allèles vont ségréger dans les produits de la méiose, lesquels, après maturation, deviennent les gamètes. Nous avons vu que la ségrégation d'un couple d'allèles dans les produits de méiose était une ségrégation 1:1 (on va avoir 50 % de gamètes *bw* et 50 % de gamètes *bw+*, ovules et spermatozoïdes confondus). Les associations entre gamètes mâles et femelles se font au hasard : un ovule *bw* a autant de chances d'être fécondé par un spermatozoïde *bw* que par un *bw+*. De même, un ovule *bw+* sera fécondé soit par un spermatozoïde *bw*, soit par un *bw+*, avec une égale probabilité. Ces différentes combinaisons de gamètes donnent finalement trois génotypes possibles pour les individus F2 : $\frac{bw^+}{bw^+}$, $\frac{bw}{bw^+}$ et $\frac{bw}{bw}$, avec les probabilités respectives de $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ et $\frac{1}{4}$. Les phénotypes sont au nombre de deux : soit [bw], soit [bw+] dont les proportions sont, respectivement, 3/4:1/4 (ou encore 3:1).

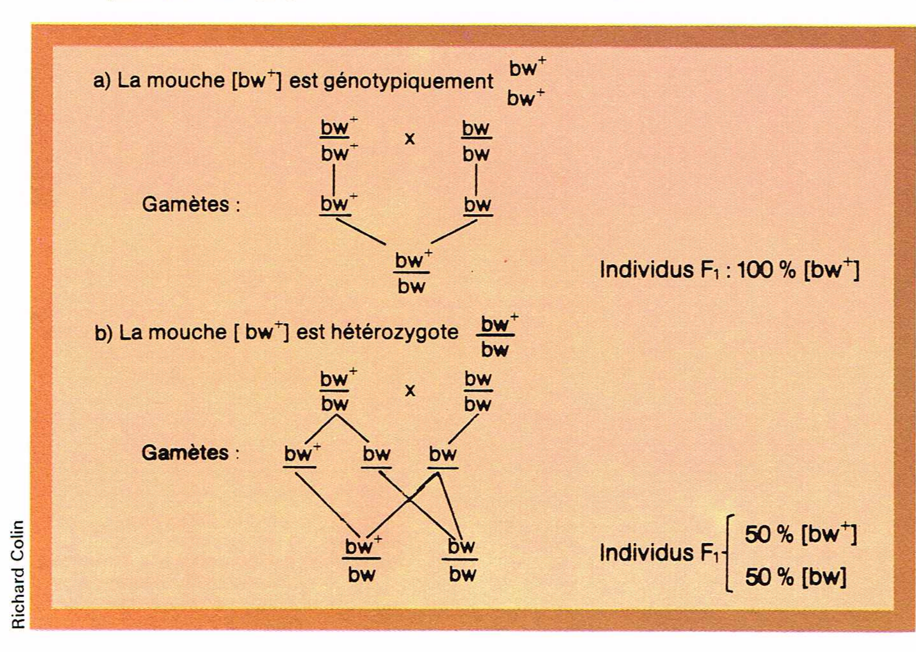
On voit que la ségrégation mendélienne 3/4:1/4, au niveau des phénotypes, recouvre strictement la même réalité que la ségrégation 1:1 au niveau des produits haploïdes de la méiose que nous avons constatée chez les Ascomycètes.

Le test-cross

Il ressort de cette étude que les individus F2 de phénotype [bw+] ne forment pas une classe homogène, mais sont constitués pour les deux tiers d'hétérozygotes $\frac{bw^+}{bw}$ et d'un tiers d'homozygotes $\frac{bw^+}{bw^+}$. Pour s'en assurer, il faut effectuer un croisement supplémentaire qu'on appelle un *test-cross* (croisement-test). On croise les individus [bw+] (dont on ne connaît pas le génotype) par une souche homozygote pour l'allèle récessif dont on veut tester la présence. Ici, cette souche est le parent [bw], qui est bien homozygote $\frac{bw}{bw}$. La figure ci-dessous, à gauche, résume les résultats si la souche testée est homozygote $\frac{bw^+}{bw^+}$ ou hétérozygote. Il est intéressant de noter que la fréquence des phénotypes dans la F1 de ce type de croisement représente la fréquence des gamètes produits par l'individu testé. L'homozygote produit 100 % de gamètes *bw+* et la F1 comporte 100 % de mouches [bw+]. L'hétérozygote produit 50 % de gamètes *bw+* et 50 % de gamètes *bw* (ségrégation 1:1) et la F1 est constituée de 50 % de mouches [bw+] et de 50 % de mouches [bw].

Le test-cross est, on le voit, une technique extrêmement précieuse, car elle permet de connaître sans aucune ambiguïté le génotype d'un individu.

▼ ***Le test-cross : il révèle la fréquence des gamètes produits par un individu hétérozygote que l'on croise avec une souche homozygote pour l'allèle récessif que l'on veut tester.***



Richard Colin

L'indépendance

Nous avons établi qu'une ségrégation 1:1 au niveau des produits de la méiose se traduisait par une ségrégation 3:1 pour les individus diploïdes en F2. Comment va se traduire une proportion de 50 % de produits parentaux et de 50 % de produits recombinés dont on a vu qu'elle caractérisait la ségrégation de deux couples d'allèles indépendants chez les Ascomycètes?

Gardons le couple d'allèles que nous avons utilisé précédemment : *bw/bw+*. Il existe un autre couple d'allèles *e/e+*, qui contrôle la couleur du corps. Les individus [e+] ont un corps jaune avec des anneaux plus foncés. Les individus [e] ont le phénotype *ebony* (corps entièrement sombre). Nous allons effectuer un croisement entre une lignée pure *ebony* et une lignée pure *brown* soit $\frac{e\ bw^+}{e\ bw^+} \times \frac{e^+\ bw}{e^+\ bw}$. La F1 est homogène et toutes les mouches ont un phénotype « sauvage » [e+ bw+]. Comme elles sont hétérozygotes $\frac{e}{e^+}\frac{bw}{bw^+}$, cela signifie que *bw+* est dominant sur *bw* (comme cela a déjà été mis en évidence) et que *e+* est dominant sur *e*. Plutôt que de fabriquer une génération F2 en croisant les mouches F1 entre elles, il est intéressant d'effectuer avec ces drosophiles doublement hétérozygotes un test-cross : pour cela, il faut croiser les individus constituant la F1 par une souche homozygote pour les deux allèles récessifs que l'on veut déceler, soit *e* et *bw*, ce qui

s'écrit : F1 $[e^+\ bw^+] \times \frac{e\ bw}{e\ bw}$.

Le parent testeur va produire un seul type de gamètes : *e bw*. La mouche hétérozygote va fournir quatre types de gamètes : *e bw*, $e^+\ bw^+$, $e^+\ bw$ et $e\ bw^+$. Les fréquences de ces gamètes sont données par les fréquences des phénotypes correspondants dans la descendance du test-cross. On observe quatre phénotypes également fréquents : 1/4 [e bw], 1/4 $[e^+\ bw^+]$, 1/4 $[e^+\ bw]$ et 1/4 $[e\ bw^+]$. Quelles sont les associations parentales et recombinées ? Les gamètes produits par les parents étaient $e\ bw^+$ et $e^+\ bw$. On voit clairement qu'il y a 50 % de produits de méiose parentaux et 50 % de produits recombinés.

Si, au lieu de faire un test-cross, on laisse s'effectuer des croisements entre mouches de la F1, quelle va être la constitution de la génération F2 ainsi obtenue ? Chacun des parents va fournir 4 types de gamètes avec des fréquences égales. Pour les combiner deux à deux, il faut construire un tableau à 16 cases, chaque case étant également probable.

Le nombre de combinaisons de gènes (génotypes) ainsi obtenues est de 9. L'une d'entre elles est obtenue 4 fois : $\frac{e\ bw}{e^+\ bw^+}$; 4 sont obtenues 2 fois :

$$\frac{e^+\ bw}{e^+\ bw^+},\ \frac{e\ bw^+}{e^+\ bw^+},\ \frac{e\ bw}{e^+\ bw}\ \text{et}\ \frac{e\ bw}{e\ bw^+};$$

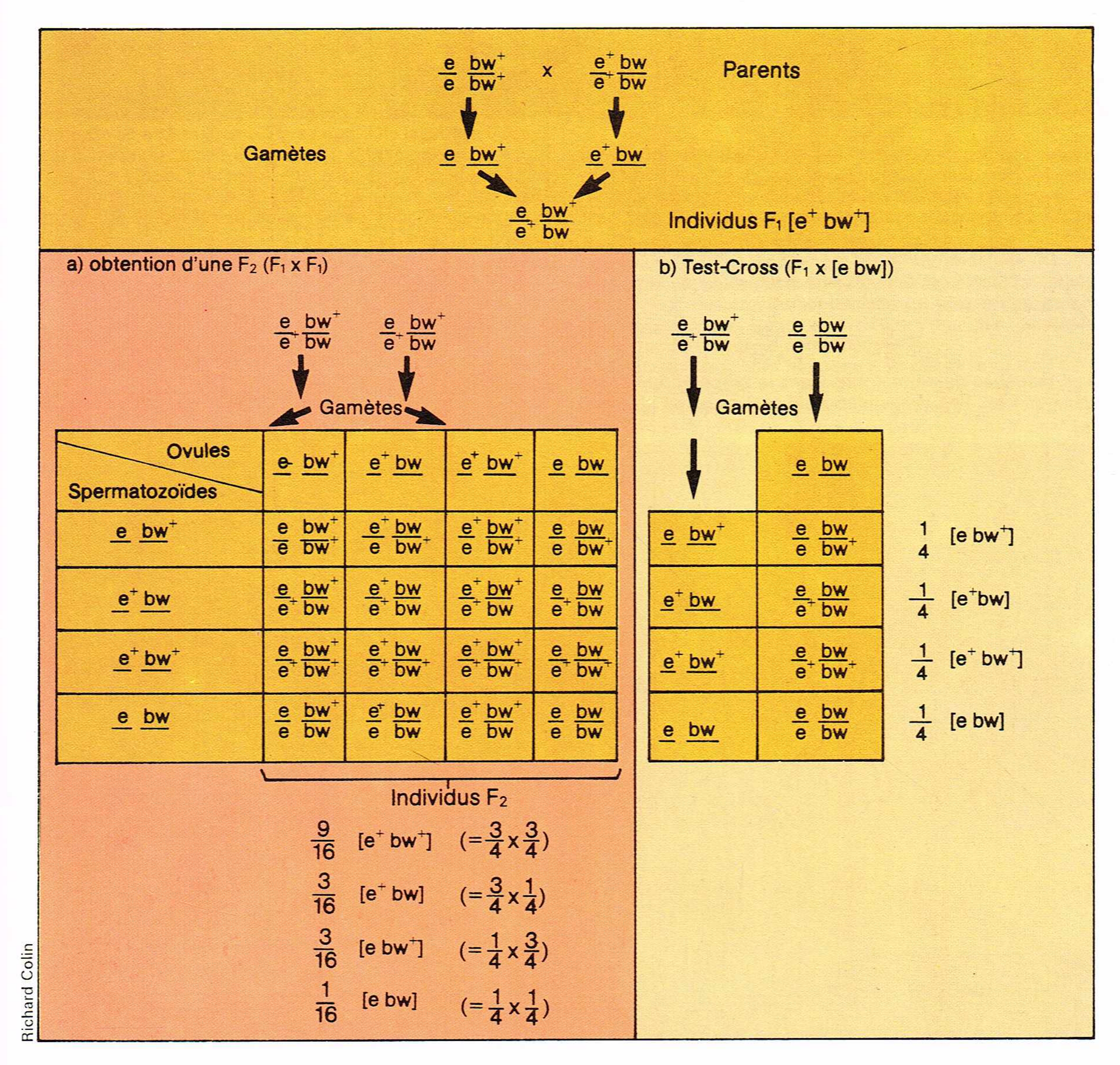
et enfin 4 sont obtenues 1 fois, il s'agit des 4 suivantes : $\frac{e^+\ bw^+}{e^+\ bw^+},\ \frac{e^+\ bw}{e^+\ bw},\ \frac{e\ bw^+}{e\ bw^+}$ et $\frac{e\ bw}{e\ bw}$. On retrouve 4 phénotypes, avec les fréquences suivantes : 9/16 $[e^+\ bw^+]$, 3/16 $[e^+\ bw]$, 3/16 $[e\ bw^+]$ et 1/16 [e bw]. On peut établir la ségrégation pour chaque couple d'allèles : pour le couple e/e^+, on a :
9/16 + 3/16 = 3/4 de $[e^+]$, et 3/16 + 1/16 = 1/4 de [e] ; pour le couple bw/bw^+, on a aussi 3/4 $[bw^+]$ et 1/4 [bw]. On vérifie ainsi la ségrégation 3:1 pour chaque couple d'allèles. Remarquons aussi que la fréquence des mouches $[e^+\ bw^+]$ (9/16) est le produit de la fréquence des mouches $[e^+]$ (3/4) par la fréquence des mouches $[bw^+]$ (3/4). Il est en effet normal que la probabilité de la réalisation simultanée de deux événements indépendants soit le produit de la probabilité de réalisation de chacun d'eux pris isolément.

Les proportions 9:3:3:1 sont les proportions mendéliennes classiques que l'on observe lorsqu'on a affaire à la ségrégation de deux couples d'allèles indépendants.

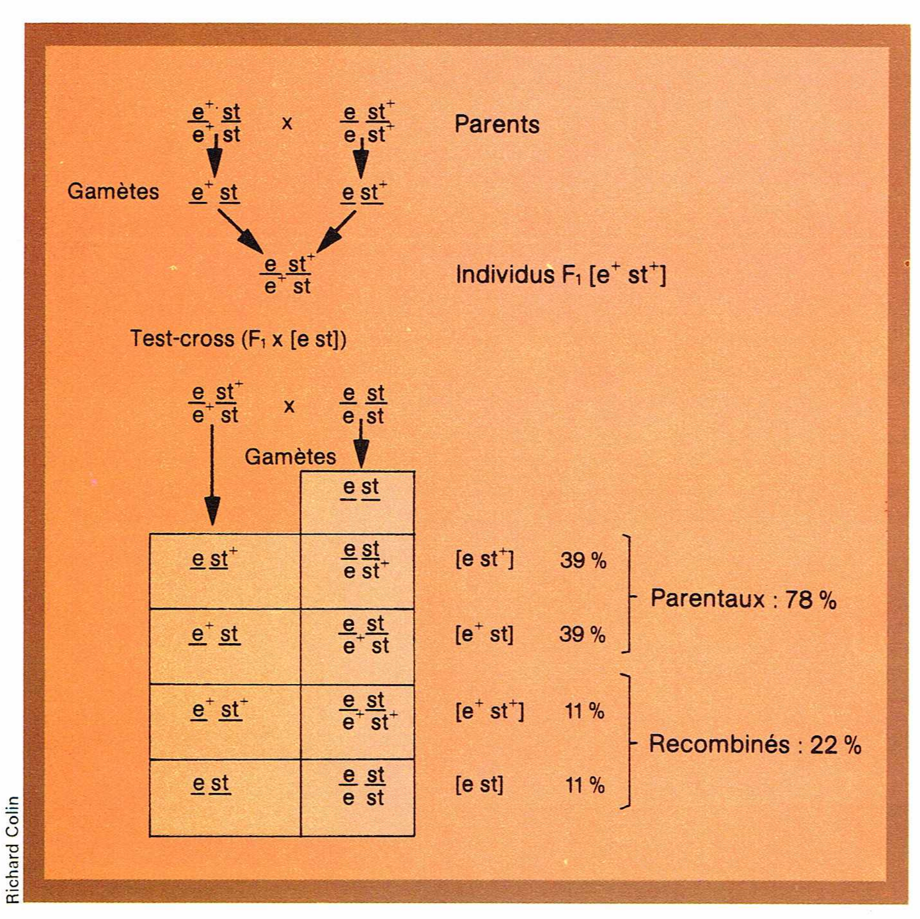
La liaison

Comme nous l'avons montré, l'emploi du test-cross permet de connaître facilement les fréquences avec lesquelles apparaissent les différents génotypes dans les produits de la méiose. Il s'agit donc d'un artifice extrêmement simple qui permet de se replacer dans les conditions où l'on peut analyser directement les produits de méiose. Nous avons, en outre, constaté que la liaison est la tendance que montrent ces associations génotypiques parentales à se maintenir préférentiellement. On pourra donc très facilement mettre une liaison en évidence grâce au test-cross.

Si, par exemple, on effectue un croisement entre la lignée pure *ebony* (déjà étudiée) et la lignée pure *scarlet*



◀ ***Tableau récapitulatif des résultats observés démontrant le phénomène d'indépendance.***



▲ *Croisement entre mouche à corps noir (ebony) et mouche à yeux écarlates (scarlet).*

(yeux écarlates), qu'observe-t-on ? D'abord, on obtient une F1 homogène « sauvage » [e^+ st^+]. Ceci nous renseigne sur les relations de dominance entre les caractères : e^+ est dominant sur *e* ; st^+ est dominant sur *st*. Le génotype des mouches F1 doit être $\frac{e}{e^+}\frac{st}{st^+}$. Si l'on fait le test-cross, on croise ces individus hétérozygotes par la souche homozygote pour les allèles récessifs :

$$\frac{e}{e^+}\frac{st}{st^+}\ (F1) \times \frac{e}{e}\frac{st}{st}.$$

Les mouches de cette souche ont le corps *ebony* et les yeux *scarlet*. Les descendants du test-cross se répartissent entre quatre phénotypes, ce qui dénote la production de quatre sortes de gamètes par les hétérozygotes de la F1. Les associations parentales sont *ebony* [e st^+] et *scarlet* [e^+ st], et les recombinés sont donc « sauvages » [e^+ st^+] et doubles mutants [e st]. Si les couples d'allèles e/e^+ et st/st^+ ségrégeaient indépendamment, on observerait 25 % de chacun des types, soit 50 % de parentaux et 50 % de recombinés. Or, en réalité, on obtient 22 % de recombinés pour 78 % de parentaux : il y a donc liaison.

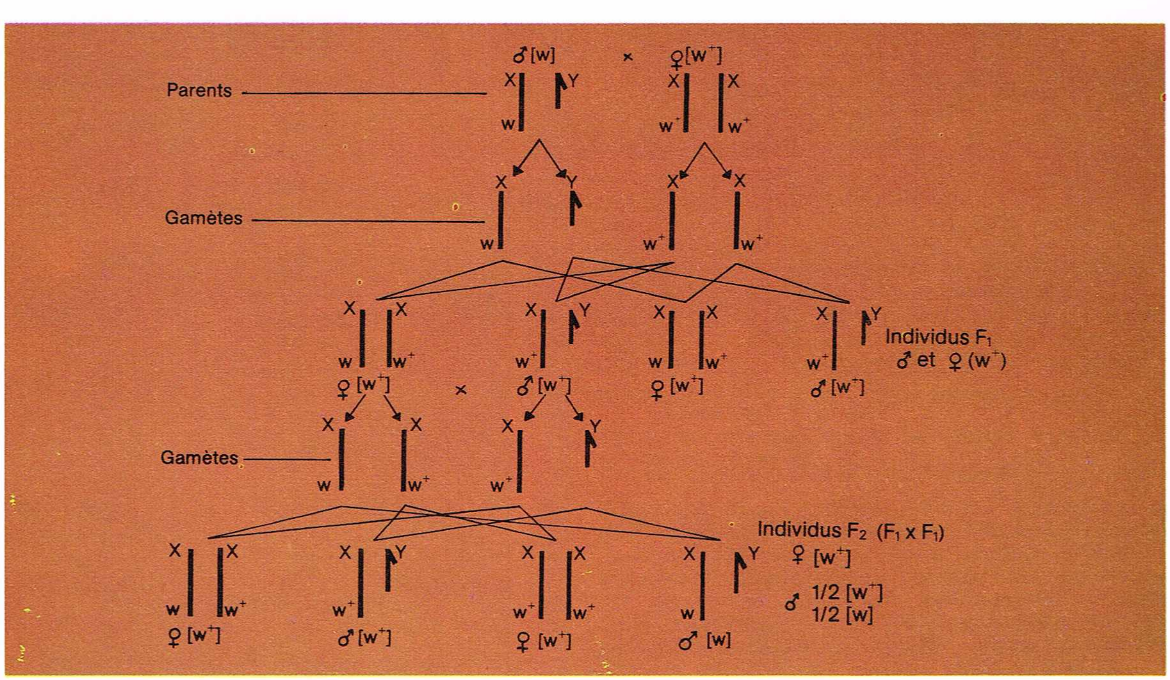
L'estimation de la distance séparant les deux loci peut se faire : on observe 22 % de recombinaisons. Contrairement à ce qui se passe chez les Ascomycètes, on ne dispose pas des quatre produits d'une même méiose ensemble, mais seulement d'un mélange de produits de méiose en vrac. L'absence d'asques ditypes recombinés rend impossible une estimation du nombre de doubles crossing-over et, par là même, de la possibilité d'effectuer une correction pour avoir une meilleure estimation de la distance. Il faut se contenter d'estimer la distance qui sépare les gènes *scarlet* et *ebony* à 22 unités de recombinaison tout en étant conscient du fait que cette distance est sans doute sous-estimée.

L'hérédité liée au sexe

On a vu qu'il existait, chez la drosophile, entre mâles et femelles, une différence dans la morphologie d'une paire de chromosomes : les femelles possèdent deux chromosomes X et les mâles possèdent un X et un Y. En ce qui concerne les hétérochromosomes, les femelles produisent une seule sorte de gamètes, qui portent tous un chromosome X. Quant aux mâles, ils produisent deux sortes de spermatozoïdes : la moitié d'entre eux porte un X et l'autre moitié un Y. La fécondation d'un ovule par un spermatozoïde de la première espèce donnera un individu XX, donc femelle, et l'union d'un ovule avec un spermatozoïde du deuxième genre produira un mâle XY. De cette manière, il est clair que le chromosome X d'un mâle lui vient de sa mère, et le chromosome Y de son père. Il est aussi clair que ce mâle transmettra ce chromosome X uniquement à ses filles. Si la transmission d'une génération à l'autre des chromosomes sexuels X et Y obéit à des lois particulières à ces chromosomes, le comportement des gènes qu'ils portent doit être particulier.

C'est ce qui constitue *l'hérédité liée au sexe*.

C'est encore Morgan qui, en 1910, signala le premier cas d'un caractère ségrégeant différemment selon que le parent qui le portait était mâle ou femelle. Il s'agit du phénotype *white* [w] (les mouches [w] ont les yeux blancs). Morgan effectua un croisement entre un mâle [w] et une femelle [w^+]. La génération F1 fut homogène : toutes les mouches avaient les yeux rouges



▶ *L'hérédité liée au sexe : on observe clairement la ségrégation du caractère « yeux blancs » (white).*

Ph. Chaumeton - Jacana

◀ ***Lors de la mise en évidence de l'hérédité liée au sexe, Morgan nota un fait surprenant : toutes les mouches à yeux blancs [w] étaient des mâles.***

[w⁺] (le caractère *white* était évidemment récessif). Il obtint, en croisant entre elles les mouches F1, une F2 constituée de 25 % de mouches [w] et de 75 % de mouches [w⁺]. La concordance avec une ségrégation mendélienne classique 3:1 était bonne. Mais Morgan nota un fait surprenant : *toutes les mouches à yeux blancs [w] étaient des mâles*. La composition de la F2 était donc la suivante : les femelles étaient toutes à yeux rouges [w⁺], la moitié des mâles était à yeux rouges et l'autre moitié à yeux blancs (1/2 ♂ [w⁺], 1/2 ♂ [w]).

Supposons que le gène responsable du couple de caractères alternatifs [w⁺]/[w] soit localisé sur le chromosome X et qu'*il ne soit pas représenté sur le chromosome Y*. Nous avons vu que l'allèle *w* est récessif (F1 homogène [w⁺]). Le mâle d'origine à yeux blancs devait porter l'allèle récessif *w* sur son unique chromosome X. Il a été croisé par une femelle portant l'allèle dominant w^+ sur ses deux chromosomes X. La figure ci-contre montre que cela suffit à expliquer aussi bien les résultats observés en F1 que ceux observés en F2. On peut remarquer que les croisements F1 × F1, destinés à obtenir une F2, sont analogues à un test-cross si l'on n'observe que les mâles de la F2. Ces derniers, en ce qui concerne les gènes portés par le chromosome X, sont finalement une population de chromosomes X provenant des femelles de la F1. Le fait que l'on ait 50 % de mâles [w] et 50 % de mâles [w⁺] signifie simplement que le couple d'allèles w/w^+ présente une ségrégation 1:1.

Que se serait-il passé si Morgan avait effectué le croisement en intervertissant les sexes des parents, c'est-à-dire en croisant des mâles à yeux rouges [w⁺] par des femelles à yeux blancs [w]? Nous avons vu plus haut que les ♂ reçoivent leur chromosome X de leur mère. Tous les mâles de la génération F1 auraient été [w], alors que les femelles recevant un X de leur père et un X de leur mère auraient été hétérozygotes [w⁺]. En effectuant le croisement dans ce sens, les *résultats auraient été différents*, puisque la ségrégation liée au sexe aurait été *visible dès la génération F1*.

Pour résumer, l'hérédité liée au sexe se définit par une ségrégation des caractères différente selon le sexe des descendants du croisement. Elle se caractérise aussi par le fait que, selon le sens du croisement, les résultats diffèrent. Au niveau d'une population, on le verra en détail plus tard, cela se traduit par le fait que les mâles présentent plus souvent que les femelles les caractères récessifs liés au sexe. Ceci est simplement dû au fait qu'ils ne peuvent jamais être hétérozygotes pour ce caractère (ils possèdent un seul chromosome X). Par exemple, dans l'espèce humaine, les hommes sont beaucoup plus fréquemment daltoniens ou hémophiles que les femmes, car les gènes qui déterminent ces caractères sont localisés sur le chromosome X.

D'un point de vue historique, la découverte de l'hérédité liée au sexe a été, avant toute preuve fondée sur une analyse biochimique, un des arguments importants en faveur de la théorie chromosomique de l'hérédité. Dès le début de notre siècle, avec la redécouverte des lois de Mendel, ont été émises de nombreuses hypothèses concernant le support matériel des facteurs héréditaires. Il n'était pas évident, à l'époque, qu'il s'agît des chromosomes; bien d'autres structures cellulaires étaient candidates à cette importante fonction. Ce n'est que dans les dernières années du XIXe siècle que le comportement des chromosomes à la mitose et à la méiose fut à peu près connu. La première preuve de la théorie chromosomique fut fournie par le parallèle évident entre la ségrégation d'un couple d'allèles et la séparation des chromosomes homologues à l'anaphase de la première division de méiose. Le second argument consista en l'observation que la disposition de différentes paires de chromosomes, puis leur séparation à l'anaphase de division I se font indépendamment d'une paire à l'autre, ce qui se traduit par les ségrégations indépendantes de couples d'allèles situés sur des chromosomes différents. La troisième preuve fut donnée par le fait que *certains caractères se transmettent, comme le chromosome X*. Dès lors, une corrélation directe entre la transmission d'un gène particulier et celle d'un chromosome déterminé était clairement établie.

La génétique sans croisements

Il existe un certain nombre de cas particuliers dans lesquels il est impossible de procéder en effectuant des croisements. Cela est dû principalement à deux sortes

▶ Certaines espèces sont bien capables d'avoir un cycle de reproduction sexuée, mais sont pratiquement inutilisables pour une analyse génétique, notamment lorsque le temps entre deux générations est trop long; c'est le cas des gros Mammifères, tels les éléphants.



de causes. La première est que certaines espèces ne présentent pas de reproduction sexuée connue, mais seulement des formes variées de reproduction végétative. Il est alors évidemment impossible d'observer comme d'ordinaire des ségrégations de caractères ou des recombinaisons. Dans certains cas, il est cependant possible d'effectuer une analyse génétique par le biais de ce qu'on appelle la *recombinaison mitotique*. La deuxième cause essentielle de l'impossibilité d'utiliser des croisements est d'une autre nature. Certaines espèces sont bien capables d'avoir un cycle de reproduction sexuée, mais on ne peut pas, pratiquement, utiliser celui-ci pour une analyse génétique; soit parce que le temps entre deux générations est trop long (c'est le cas de nombreux arbres ou de gros Mammifères), soit que des principes moraux ou sociaux interdisent d'y avoir recours (c'est le cas de l'espèce humaine).

Il est cependant possible de recueillir de nombreuses données par l'étude de *généalogies* ou de *pedigrees*. La seule condition requise est de disposer de données dignes de confiance qui s'étendent sur un temps très long; c'est le cas pour des espèces qui ont depuis longtemps intéressé les sélectionneurs et les éleveurs. Pour l'homme, on dispose, dans certaines familles, notamment des familles royales des siècles passés, de généalogies assorties d'une bonne description physique des individus qui les composent. On peut alors suivre la transmission d'une génération à l'autre de tel ou tel caractère marquant,



Tiofoto

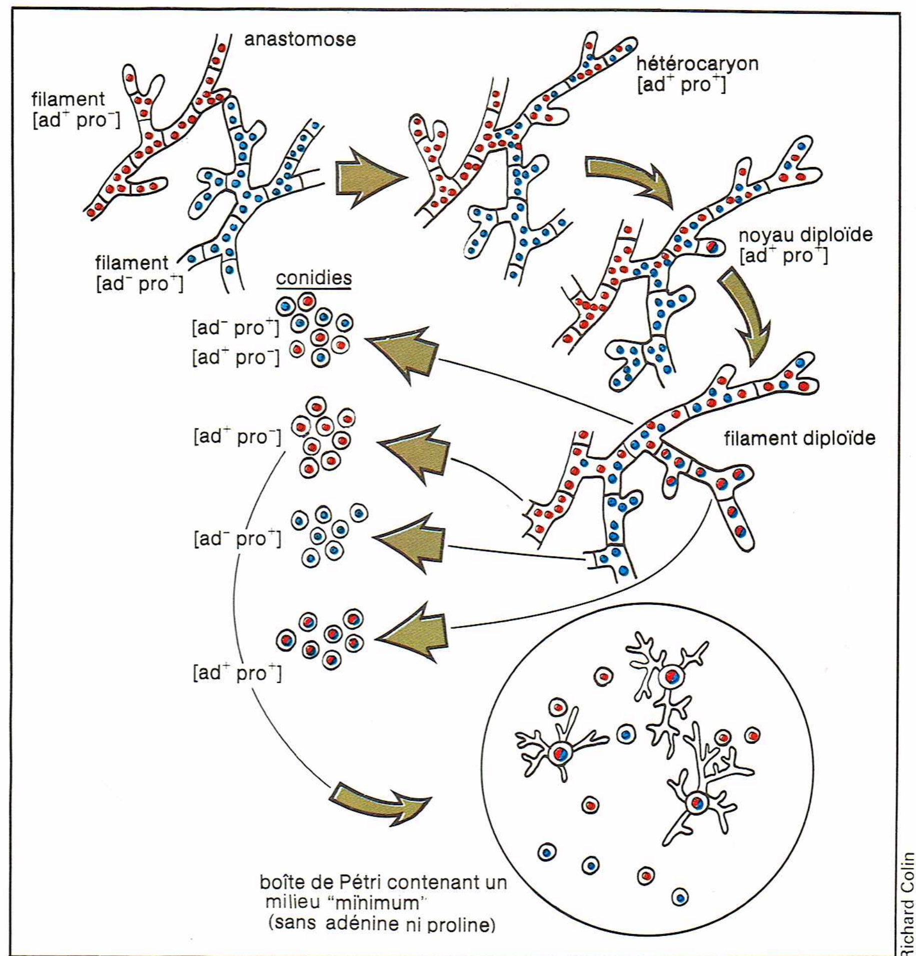
et étudier son hérédité : la lèvre des Habsbourg, le nez des Bourbons, l'hémophilie dans la descendance de la reine Victoria, etc.

L'analyse génétique fondée sur la mitose

Cette méthode a surtout été utilisée chez les Champignons, et l'exemple dont nous nous servirons est *Aspergillus nidulans,* un Ascomycète. Ce Champignon se présente sous forme de filaments dont les noyaux sont haploïdes. L'étape essentielle pour cette étude est l'obtention et la sélection de noyaux diploïdes. La méthode la plus efficace consiste à fabriquer un *hétérocaryon*, c'est-à-dire un filament dont les articles contiennent deux sortes de noyaux ; les uns provenant d'une souche et les autres d'une deuxième souche. Alors seulement ces deux types de noyaux haploïdes pourront fusionner et donner naissance à des noyaux diploïdes hybrides, qui seront analogues aux zygotes obtenus par fécondation.

Pratiquement, il est nécessaire que les deux souches que l'on souhaite croiser de cette manière présentent des déficiences nutritionnelles. Une souche auxotrophique est incapable de se développer si on ne lui fournit pas le métabolite qu'elle est devenue inapte, à la suite d'une mutation, à synthétiser. Par exemple, une souche mutante [ad−] n'est plus capable de fabriquer l'adénine, et une souche [pro−] n'est plus capable de synthétiser la proline. Pour que la première souche se développe, il faut obligatoirement fournir de l'adénine dans le milieu de culture, et, pour la deuxième, de la proline. La seule façon qu'aient deux mutants, l'un [ad−] (mais [pro+]) et l'autre [pro−] (mais [ad+]), de croître sur un milieu dépourvu de ces substances est de se *complémenter :* c'est-à-dire que l'un va fabriquer ce qui manque à l'autre, et inversement. Pour cela, il est nécessaire que les gènes des deux mutants, donc leurs noyaux, se trouvent réunis dans le même cytoplasme. Cette structure est appelée *hétérocaryon* (parce qu'elle contient deux types différents de noyaux).

▼ ***Représentation schématique de l'analyse génétique par la recombinaison mitotique chez Aspergillus nidulans : l'étape essentielle pour cette étude est l'obtention et la sélection de noyaux diploïdes.***



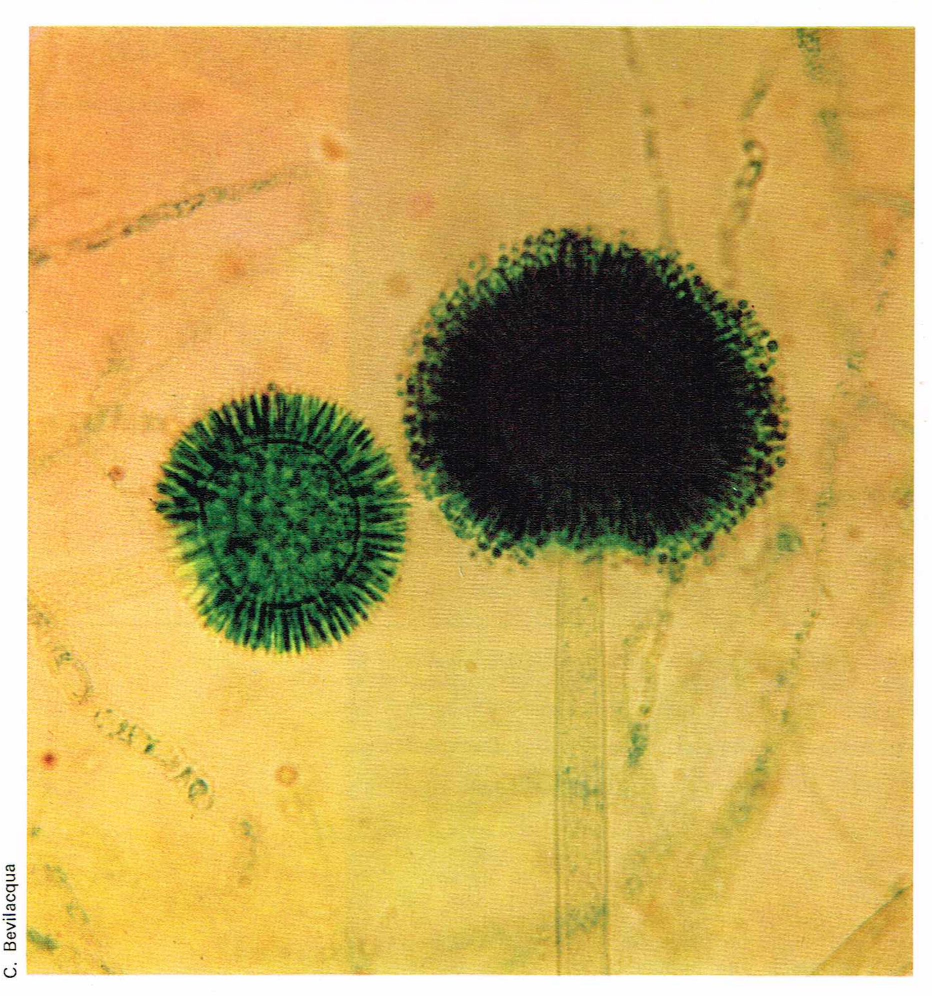
Richard Colin

Dans un hétérocaryon, il se produit aléatoirement, et avec une faible fréquence, des fusions entre les deux types de noyaux, ce qui a pour résultat l'apparition de noyaux diploïdes hétérozygotes $\frac{ad^- \; pro^-}{ad^+ \; pro^+}$. Comment peut-on les sélectionner, c'est-à-dire les distinguer des autres, puis les en séparer ? Les Ascomycètes du genre *Aspergillus,* comme *A. nidulans,* présentent un mode de reproduction végétative par *conidies.* Ces organes sont des cellules, en majeure partie uninucléées, qui peuvent se détacher des filaments du mycélium. Les conidies peuvent germer sur un milieu approprié et redonner un nouveau mycélium filamenteux. Leur utilisation permet donc d'obtenir une population de cellules isolées, qui

P. Starosta

▲ *Des expériences permettant d'obtenir la fusion entre des noyaux de cellules maintenues en culture ont permis de commencer à établir la carte génétique des chromosomes humains. Ici, on observera, chez* Tenebrio molitor, *à gauche, un individu* polyploïde, *à droite, un individu normal.*

▼ *Conidiophores d'*Aspergillus niger, *portant les conidies.*



C. Bevilacqua

seront susceptibles d'avoir un phénotype déterminé par un unique noyau, ce qui n'est pas le cas dans un filament.

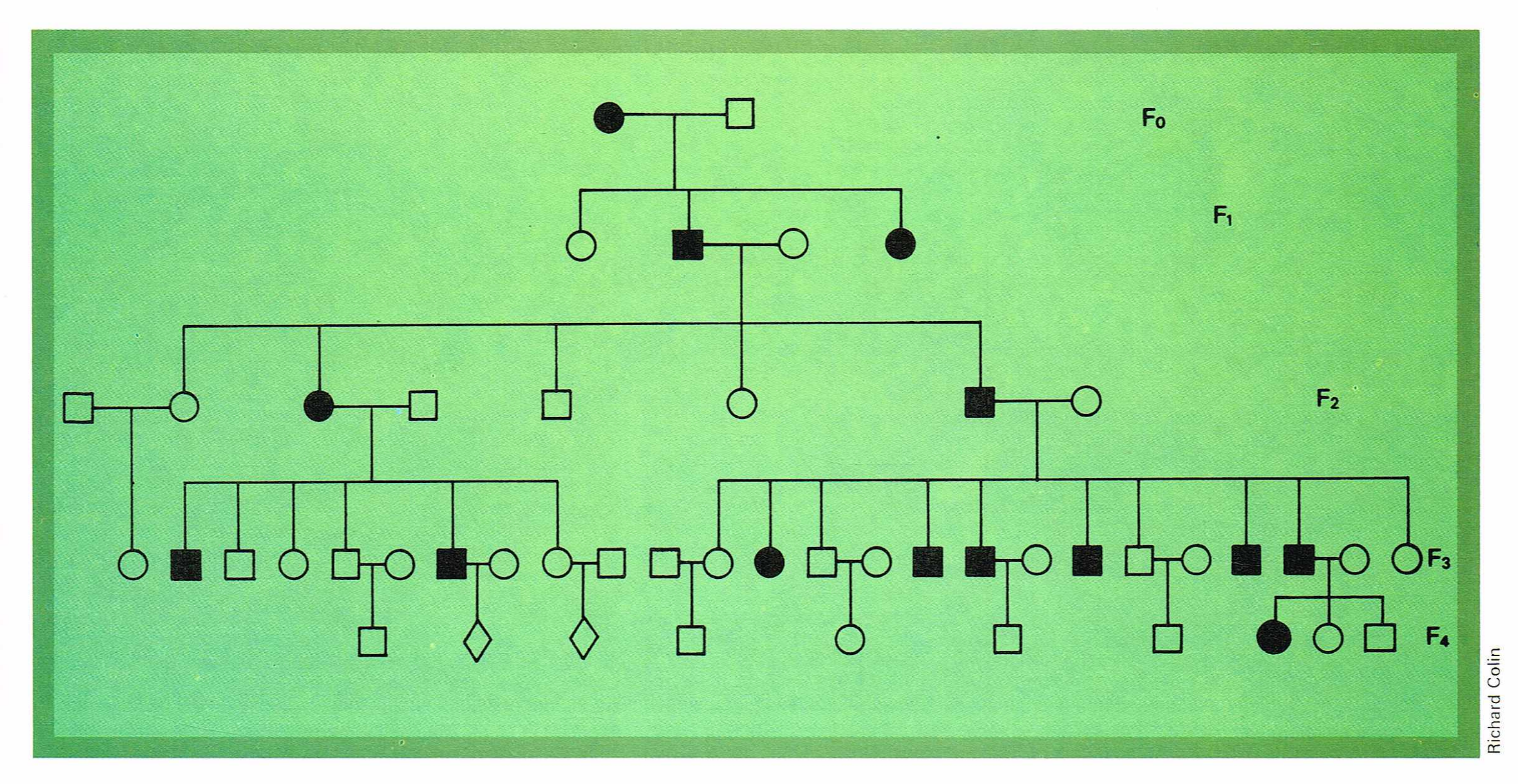
Si l'on recueille les conidies provenant d'un hétérocaryon, on va en obtenir principalement deux types : des cellules uninucléées portant l'un des deux noyaux parentaux [ad^+ pro^-] ou [ad^- pro^+]. De plus, il s'est produit des noyaux diploïdes hybrides par fusion entre les deux types nucléaires parentaux, on recueillera aussi des conidies diploïdes $\frac{ad^-}{ad^+}\,\frac{pro^-}{pro^+}$. On étale une suspension de conidies sur un *milieu minimal* (qui ne contient ni adénine, ni proline). Les cellules [ad^- pro^+] ne germeront pas, car elles ne disposent pas d'adénine, et les cellules [ad^+ pro^-] ne se développeront pas, du fait de l'absence de proline. Seules les conidies diploïdes $\frac{ad^-}{ad^+}\,\frac{pro^-}{pro^+}$ pourront germer grâce à la complémentation. Leur phénotype est donc [ad^+ pro^+]. On voit que si l'on prend les conidies uninucléées d'un hétérocaryon et qu'on les étale sur un milieu minimal, seules les cellules diploïdes vont se développer. Il est donc extrêmement simple de les sélectionner.

Nous avons réalisé une opération analogue à la fécondation qui a lieu lors de la reproduction sexuée. Il reste à obtenir quelque chose ressemblant à la ségrégation qui a lieu à la méiose. Cela se produit naturellement. On s'aperçoit, en effet, qu'un mycélium diploïde hétérozygote $\frac{ad^+}{ad^-}\,\frac{pro^+}{pro^-}$ produit en fait quatre types de conidies. La grande majorité est [ad^+ pro^+], mais il en apparaît d'autres : [ad^+ pro^-], [ad^- pro^+] et [ad^- pro^-]. Puisque les deux allèles de chaque couple se séparent, il y a bien *ségrégation* des allèles.

Sans entrer dans le détail, nous dirons que cette ségrégation peut avoir principalement deux origines. D'abord, elle peut être due à la perte de l'état diploïde, c'est-à-dire à un retour à l'état haploïde. On voit facilement que lors d'un processus de ce type un noyau hétérozygote $\frac{ad^-}{ad^+}$, s'il devient haploïde, peut devenir soit [ad^-], soit [ad^+], ce qui provoque la ségrégation.

La séparation des allèles peut aussi provenir, quand l'état diploïde est conservé, de crossing-over entre chromosomes homologues.

L'analyse génétique effectuée pendant la phase végétative permet donc, par des moyens détournés, de mettre en évidence les deux phénomènes principaux qui se



▲ *Représentation schématique du* **pedigree de la brachydactylie** *chez l'homme (les individus brachydactyles sont représentés en noir).*

produisent habituellement pendant la méiose : la ségrégation des allèles et la recombinaison. A l'heure actuelle, ces données sont d'une extrême importance. En effet, elles ont récemment permis de mettre en œuvre des expériences de génétique chez les animaux, en particulier chez de nombreux Mammifères, dont l'homme.

Depuis quelques années, il est devenu possible, en travaillant dans des conditions expérimentales très précises, d'obtenir la fusion entre des noyaux de cellules maintenues en culture. La différence avec ce qu'on vient de voir est que les noyaux de départ ne sont pas haploïdes mais diploïdes. D'une part, les noyaux hybrides résultant de la fusion ne sont donc pas diploïdes mais *tétraploïdes* (4 n). D'autre part, l'état tétraploïde de noyaux qui sont normalement diploïdes est, la plupart du temps, très instable. Ces deux difficultés compliquent singulièrement la tâche des chercheurs ; mais ces expériences, pour aussi difficiles qu'elles soient, donnent des résultats d'un grand intérêt. Ainsi, elles ont permis de commencer à établir la carte génétique des chromosomes humains. Quand on sait quelle importance ont les anomalies du nombre de chromosomes dans l'espèce humaine, on comprend qu'il est important de savoir quels sont les gènes qui sont portés par ces chromosomes. Les méthodes d'hybridation cellulaire ont permis d'obtenir des fusions cellulaires entre des cellules d'espèces et de genres différents : cellules hybrides rat-souris et même homme-souris.

Les généalogies

C'est dans l'étude des pedigrees de l'espèce humaine que la méthode d'étude a été le plus poussée. Dès le début du XXe siècle, en 1905, Farabee démontrait que le principe de la ségrégation des caractères héréditaires se manifestait aussi dans l'espèce humaine.

Un exemple classique est celui de la *brachydactylie* (anomalie du squelette qui se traduit par des doigts très courts).

Les conventions veulent que l'on représente une femme par un cercle et un homme par un carré. Lorsqu'on ne connaît pas le sexe d'un individu, on le symbolise par un losange. Un mariage est indiqué par un trait horizontal reliant un homme et une femme. Les individus exprimant le trait phénotypique en question sont généralement désignés par un symbole noir, au contraire des individus normaux.

On peut expliquer la généalogie de la brachydactylie en admettant qu'il s'agit d'un *caractère dominant*, qui se manifeste à la fois chez les homozygotes et chez les hétérozygotes, le type normal étant récessif. Tous les individus ayant un phénotype normal sont donc homozygotes pour les caractères récessifs, et tout mariage entre un brachydactyle et un individu normal constitue un *test-cross*. Le pedigree montre qu'à chaque génération, la moitié environ des individus est normale, et que l'autre moitié est touchée par l'anomalie ; les deux phénotypes apparaissent chez les enfants en proportion 1:1. Cela signifie que les facteurs héréditaires responsables de la brachydactylie se comportent comme un simple couple d'allèles.

Il est intéressant d'étudier également la généalogie d'une autre anomalie héréditaire : l'*hémophilie*. Chez les hémophiles, qui présentent un défaut de coagulation du sang, n'importe quelle blessure, aussi bénigne soit-elle, risque de se transformer en hémorragie très grave. Cette maladie est absente de la très grande majorité des familles, alors que certaines familles présentent des cas d'hémophilie au cours de plusieurs générations successives : l'hémophilie est héréditaire.

Le caractère est certainement récessif, puisque des enfants hémophiles naissent de mariages entre parents normaux. Les conséquences des croisements consanguins sur la fréquence des anomalies héréditaires seront examinées en détail par la suite, on peut cependant voir dès à présent que les enfants et petits-enfants issus de ce mariage sont en très forte proportion hémophiles.

L'hérédité extra-chromosomique

Les généticiens ont pris beaucoup de peine pour accumuler les preuves de la théorie chromosomique de l'hérédité. Si les preuves génétiques, bien qu'indirectes, sont convaincantes, les preuves biochimiques récentes sont directes et irréfutables. Cependant, certains caractères individuels ou cellulaires ne suivent pas les règles de l'hérédité chromosomique. Cela ne signifie pas que la théorie chromosomique soit fausse, mais cela conduit à se demander si les chromosomes sont les seuls supports de l'hérédité. La question peut se formuler comme suit : « Existe-t-il du matériel héréditaire en dehors des gènes portés par les chromosomes ? S'il en est ainsi, quelle est son importance, et à quelles lois obéit-il ?... »

Avant de chercher à répondre directement à ces questions, il est nécessaire de déterminer en quoi certaines observations peuvent suggérer une hérédité non chromosomique.

— *Différences entre les résultats de croisements réciproques.* Ordinairement, les résultats de croisements réciproques sont identiques quand on suit l'hérédité de



Lab. de génétique moléculaire - C.N.R.S., Gif-sur-Yvette

▲ *L'existence d'*ADN, *en dehors de sa localisation dans les chromosomes, a été mise en évidence, notamment dans les* mitochondries *(microphotographie électronique).*

marqueurs chromosomiques. Nous avons déjà vu qu'il existe une exception notable, celle des caractères liés au sexe. Dans ce cas, on peut cependant démontrer que ces caractères s'héritent comme le chromosome X chez la drosophile.

— *Hérédité maternelle.* C'est une forme caractéristique de différence entre croisements réciproques. L'hérédité maternelle est définie par la constatation que la progéniture exprime les mêmes caractéristiques que le parent femelle. Si l'on peut éliminer des différences chromosomiques, l'hérédité maternelle implique une transmission héréditaire par le cytoplasme ; cela, généralement parce que le gamète femelle contient beaucoup plus de cytoplasme que le gamète mâle. Le zygote résultant de la fécondation a donc un cytoplasme d'origine presque exclusivement maternelle.

— *Caractères non localisables.* Chez des organismes comme *Neurospora* ou la drosophile, où les groupes de liaison sont parfaitement connus, un caractère à hérédité chromosomique doit pouvoir être lié à d'autres marqueurs chromosomiques connus. Le seul fait qu'on ne puisse localiser le facteur responsable d'un caractère héréditaire ne signifie pas nécessairement que celui-ci suit une hérédité extrachromosomique. Il peut simplement s'agir d'un gène chromosomique localisé dans une partie non encore marquée d'un groupe de liaison.

— *Absence de ségrégation.* Ce critère est d'une grande importance, car la ségrégation des allèles à la méiose ou dans d'autres conditions appropriées (ségrégation mitotique par exemple) est une caractéristique de l'hérédité chromosomique. Son absence peut indiquer une hérédité de type extra-chromosomique.

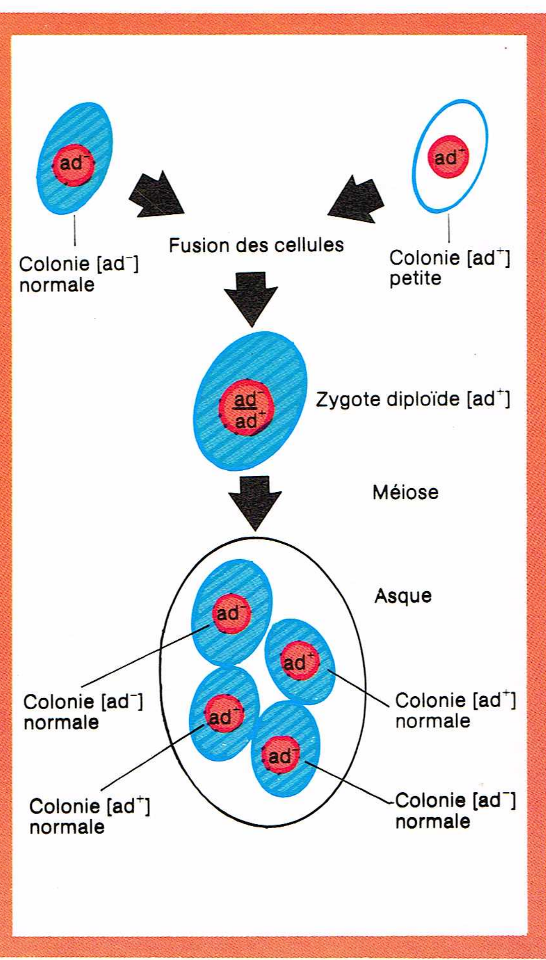
— *Ségrégation non mendélienne.* Si l'on observe une ségrégation qui suit des lois incompatibles avec le comportement des chromosomes, cela suggère que les déterminants des phénotypes concernés sont extrachromosomiques.

— *Indifférence du phénotype au type nucléaire.* C'est le cas quand une caractéristique héréditaire persiste en présence de noyaux connus pour avoir été associés avec un caractère alternatif. La question se pose de savoir si le matériel héréditaire du noyau exerce un contrôle quelconque sur ces caractères.

— *Transmission infectieuse.* Si un phénotype héréditaire est transmis d'une souche à une autre sans qu'il y ait eu transfert de noyaux, il paraît invraisemblable que ce soient les gènes chromosomiques qui déterminent ce phénotype. Il faut cependant être prudent, car la *transformation*, connue de façon sûre chez les Bactéries, prouve qu'il peut y avoir transmission de fragments de chromosomes en l'absence d'une migration de noyaux.

Les mitochondries contiennent de l'ADN

Sans entrer dans le détail de toutes les situations connues, on peut dire que l'existence de facteurs héréditaires localisés en dehors des chromosomes paraît remettre en cause un fait pourtant établi de façon irréfutable : le support moléculaire de l'hérédité est l'acide désoxyribonucléique, ou ADN. Il n'en est sans doute rien, car



Richard Colin

▶ *Représentation schématique du croisement entre une cellule* petite *et une cellule* normale *chez la levure : les cellules diploïdes de la levure peuvent se diviser avant d'effectuer la méiose ; il est alors possible d'observer le phénotype des colonies (*normales *au cours de ce croisement) ; les quatre spores sont* normales. *Les caractères ad^+/ad^- dépendent d'un couple d'allèles chromosomiques ; on vérifie qu'ils présentent une ségrégation mendélienne 1:1 dans chaque asque. Les hachures symbolisent le cytoplasme de cellules* normales *: leur absence caractérise le cytoplasme des cellules* petites.

des analyses biochimiques raffinées ont montré que l'ADN n'est pas absent du cytoplasme. On a pu fournir des preuves convaincantes de sa présence dans de nombreux organites cellulaires et, notamment, dans les chloroplastes des végétaux et dans les mitochondries : par exemple, l'ADN extrait de mitochondries purifiées a un poids moléculaire plus faible et une densité légèrement différente de celle de l'ADN chromosomique des mêmes cellules, ce qui semble exclure totalement une contamination accidentelle des mitochondries par de l'ADN nucléaire lors de l'extraction. Les techniques d'autoradiographie et le microscope électronique ont permis de voir cet ADN. Il se présente, comme chez les Bactéries, sous la forme d'un chromosome circulaire.

Les petites colonies de la levure

La levure *Saccharomyces cerevisiae* est un Ascomycète unicellulaire. Ce Champignon peut donc se manipuler comme une Bactérie. Une suspension de cellules de levure, étalée sur une boîte de Pétri contenant un milieu nutritif solide, forme des colonies. Les cultures de levure font apparaître régulièrement de 1 à 5 % de colonies qui sont plus petites que les autres. Elles sont appelées *petites* pour les distinguer des grandes colonies normales. Il est bien connu que la levure est capable d'effectuer la *fermentation*, voie métabolique qui permet la dégradation des sources de carbone en l'absence d'oxygène. Les cellules normales peuvent utiliser le milieu habituel des levures de deux façons : par la respiration et par la fermentation. Les cellules *petites*, par contre, ont perdu la capacité de respirer; elles ne peuvent utiliser le milieu que grâce à la fermentation; elles ont une vitesse de croissance plus faible que les cellules normales, lesquelles disposent des deux voies simultanées de dégradation. Cela est prouvé par le fait que les cellules *petites* sont incapables de se développer sur un milieu où la source de carbone, par exemple le glycérol ou le lactate, n'est pas utilisable par fermentation.

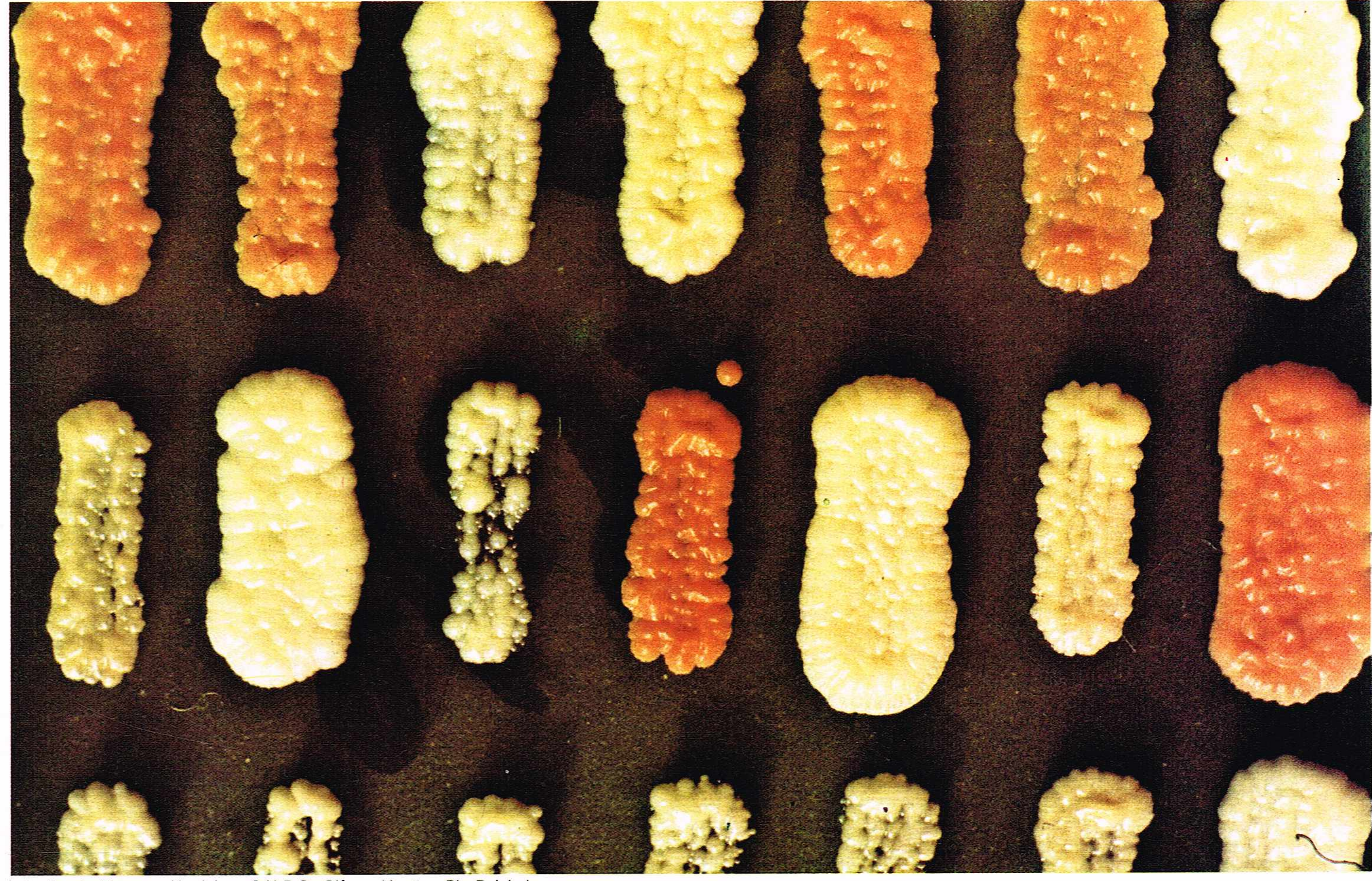
L'analyse biochimique montre que les cellules *petites* ne contiennent pas certaines enzymes respiratoires présentes dans les cellules normales. Il leur manque aussi les *cytochromes a* et *b*. De plus, le fort taux d'apparition spontanée des colonies *petites* (de 1 à 5 %) peut être augmenté jusqu'à pratiquement 100 % en présence de corps chimiques comme l'acriflavine ou le bromure d'éthidium (BET). Par contre, les cellules *petites* sont stables et ne réversent pas. Ces faits suggèrent que le caractère *petite* résulte de la perte d'une information génétique plutôt que d'une altération ponctuelle de l'ADN.

Le caractère *petite* présente une hérédité de type cytoplasmique. Il est possible d'effectuer des croisements chez la levure : deux cellules haploïdes fusionnent pour en donner une diploïde qui, sur un milieu approprié (dit de *sporulation*), subit la méiose et donne un asque contenant quatre spores haploïdes, qu'il est possible de séparer et d'analyser individuellement. Les cellules diploïdes obtenues par fusion de deux cellules *petites* sont incapables de former des asques, mais les cellules diploïdes hybrides formées par la fusion de cellules normales et de cellules *petites* peuvent former des spores.

L'analyse montre que, dans tous les cas, aucune des spores de la progéniture n'est *petite :* toutes les colonies issues d'un croisement *petite* × *normale* sont normales. L'addition de marqueurs classiques met en évidence, au cours du même croisement, une ségrégation habituelle 1:1 pour les gènes portés par les chromosomes. Les cellules descendantes du croisement ne redonnent pas non plus des cellules *petites*, même si on les croise avec le parent *petite*. Tout se passe comme si, à la suite de la fusion avec une cellule normale, le caractère *petite* était définitivement perdu. Les cellules *petites* qui manifestent ce comportement sont appelées *petites neutres*.

La première étape du croisement est la fusion des cellules, au cours de laquelle le cytoplasme des cellules normales se mélange à l'autre. Celui-ci est répliqué et devient un composant de chaque ascospore. Si un déterminant héréditaire est cytoplasmique, on voit qu'il n'y a aucune raison qu'il montre une ségrégation au niveau des quatre spores de l'asque, qui sont homogènes de

▼ ***En croisant des levures haploïdes (rouges) exigeantes en adénine avec des levures haploïdes (blanches) non exigeantes, on obtient autant de levures blanches que de rouges; cette expérience met en évidence la ségrégation d'un gène pour la couleur rouge.***



Lab. de génétique moléculaire - C.N.R.S., Gif-sur-Yvette - Ph. Reichel

ce point de vue. L'hypothèse qui a été émise est la suivante : il existerait dans le cytoplasme des particules nécessaires à la respiration, en particulier à la synthèse des enzymes respiratoires. Ces particules ont été appelées particules ρ. Les cellules normales ρ^+ contiennent ces particules, alors que les cellules *petites* ρ^- ne les contiennent plus. Dans une telle hypothèse, on comprend facilement que, lors de la fusion d'une cellule ρ^+ avec une cellule ρ^-, le diploïde soit ρ^+, car il contient ces particules ρ. De même, les particules se multiplient et se répartissent dans les quatre produits de la méiose, qui sont tous alors ρ^+, c'est-à-dire qu'ils forment des colonies normales, capables de respirer.

Les particules ρ et les mitochondries

Pour résumer, le caractère *petite* est provoqué par l'absence de certaines *enzymes respiratoires* et des *cytochromes a* et *b*, ce qui enlève aux cellules la faculté de respirer; or, la respiration cellulaire est un phénomène qui a lieu dans les mitochondries. Le caractère *petite* présente une hérédité d'un type tel que son support doit être une particule contenue dans le cytoplasme; or, les mitochondries sont des organites cytoplasmiques. Les particules doivent contenir du matériel héréditaire; or, les mitochondries contiennent de l'ADN. On le voit, il est très tentant d'affirmer l'identité entre les particules ρ et les mitochondries.

Quand on regarde au microscope électronique les cellules *petites*, on constate qu'elles contiennent des mitochondries, mais que celles-ci ont une structure anormale. Si l'on analyse l'ADN mitochondrial de cellules *petites*, on découvre qu'il est soit sensiblement plus petit que celui des cellules normales, soit totalement absent. L'identité hypothétique : $\rho \equiv$ mitochondrie est donc fausse; elle doit être transformée en $\rho \equiv$ ADN mitochondrial.

Un certain nombre de faits conduisent à considérer cette idée comme encore hypothétique, sans toutefois la remettre en question. Et cela, essentiellement, parce qu'aucune preuve vraiment directe n'a été apportée.

Les gènes mitochondriaux

Si l'ADN mitochondrial porte une information héréditaire, on peut lui donner le nom de gène. Ces gènes sont appelés *gènes mitochondriaux* pour les différencier des gènes portés par les chromosomes du noyau.

Chez la levure, comme chez beaucoup d'organismes, on a cherché des souches résistantes à un grand nombre de drogues et d'antibiotiques. Outre l'intérêt que ces souches présentent pour comprendre le mécanisme de la résistance, et donc de la sensibilité à un antibiotique, les facteurs génétiques responsables d'une résistance sont faciles à manier, car ils sont du type dit « crible positif ». Cela signifie que pour les sélectionner, il suffit de placer les cellules en présence de la drogue : seuls les résistants se développent.

Parmi les antibiotiques utilisés, on compte, en particulier, la puromycine (P), la spiromycine (S), l'érythromycine (E) et le chloramphénicol (C). En présence de ces antibiotiques, les levures normales prennent l'aspect de *petites :* elles ne respirent plus; cependant, l'effet est réversible. On pense que ces antibiotiques sont des inhibiteurs des synthèses protéiques mitochondriales. L'inhibition de ces synthèses conduit à l'absence des enzymes fabriquées normalement à ce niveau. Chez la levure, on a trouvé des souches mutantes résistantes à l'un ou l'autre de ces antibiotiques : une bonne partie de ces souches était devenue porteuse d'une résistance à hérédité cytoplasmique.

La lettre symbole de l'antibiotique, affectée d'un exposant ^{S}, désigne une souche sensible à cet antibiotique; si la souche y est résistante, l'exposant est un ^{R}. Par exemple, un mutant E^R est résistant à l'érythromycine, alors qu'une souche E^S y est sensible.

Des croisements entre mutants cytoplasmiques E^R et la souche normale E^S ont été faits. L'analyse des descendants a permis de montrer que les caractères E^R/E^S présentaient une ségrégation irrégulière non mendélienne. Dans les conditions non sélectives (en l'absence d'érythromycine), les deux types de facteurs cytoplasmiques sont réunis dans le zygote diploïde et sont distribués au hasard dans les cellules filles. Celles-ci sont de trois sortes; pures E^R, pures E^S, et hétérozygotes E^R/E^S.

Les mutants résistants, obtenus par mutation à partir de cellules normales ρ^+ (capables de respirer), sont toujours ρ^+. Si on les croise avec des cellules *petites* ρ^-, la résistance est transférée en même temps que la particule ρ : tous les descendants d'un croisement $\rho^+ E^R \times \rho^- E^S$ sont $\rho^+ E^R$.

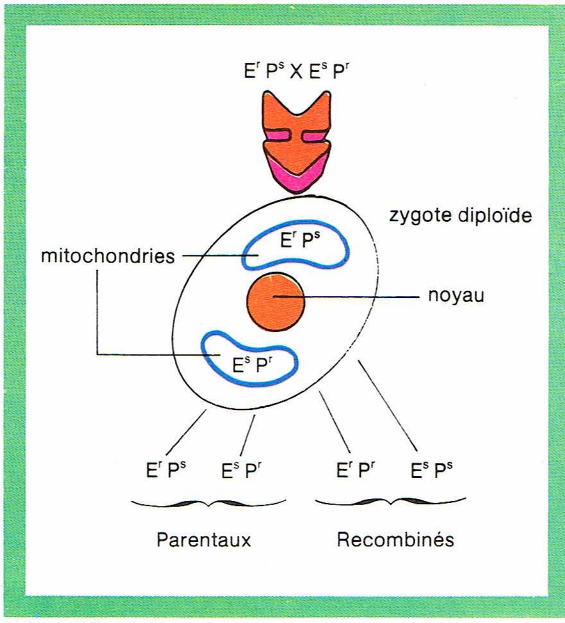
On a cherché à fabriquer des cellules *petites* ρ^- à partir de souches résistantes $\rho^+ E^R$ (il suffit, on l'a vu, de traiter par l'acriflavine et l'on obtient 100 % de ρ^-). La question à laquelle on devait répondre était la suivante : les ρ^- obtenues à partir de $\rho^+ E^R$ sont-elles E^R ou E^S? Or, il n'est pas possible de tester directement la résistance de cellules *petites* ρ^-, car sur un milieu où les levures peuvent provoquer une fermentation, l'érythromycine empêche simplement la respiration, et, de toute façon, les ρ^- ne peuvent pas respirer. D'autre part, sur un milieu non fermentescible, les ρ^- ne peuvent pas se développer, qu'elles soient E^S ou E^R. Il faut donc procéder d'une manière détournée : on croise les ρ^- avec des $\rho^+ E^S$ normales. Toute la descendance est ρ^+, comme dans tous les croisements de ce type, et aucun descendant n'est résistant E^R. Cela signifie qu'une cellule de levure $\rho^+ E^R$ qui devient ρ^- (qui perd la particule ρ) perd *simultanément* le facteur cytoplasmique de résistance.

Les facteurs cytoplasmiques de résistance aux antibiotiques du groupe considéré paraissent portés par les mitochondries, et associés à ρ, c'est-à-dire l'ADN mitochondrial. On peut considérer qu'il s'agit d'allèles de gènes mitochondriaux.

La carte du chromosome mitochondrial

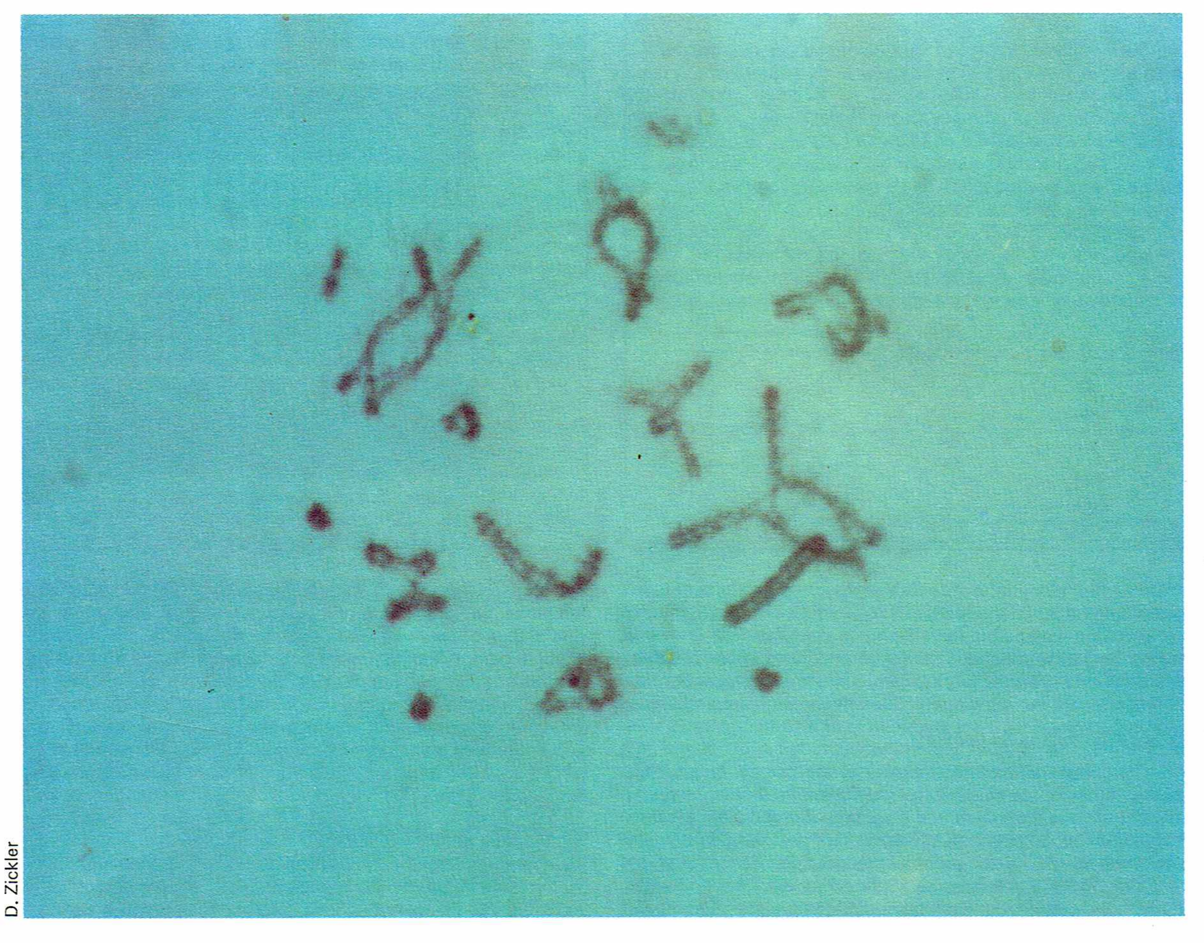
L'hypothèse de l'existence du chromosome mitochondrial et de gènes mitochondriaux pouvant lui être associés par l'intermédiaire de la particule ρ a incité un certain nombre de chercheurs à penser que l'on devrait pouvoir localiser ces gènes les uns par rapport aux autres sur le chromosome. Dans le cadre de la méthodologie génétique, cela supposait qu'on pût mettre en évidence des recombinaisons entre les gènes mitochondriaux, de façon à démontrer qu'ils sont liés, c'est-à-dire portés par la même structure physique. S'il est possible de les ordonner les uns par rapport aux autres, on doit s'attendre que leur ordre fasse ressortir une structure linéaire et circulaire, car le microscope électronique montre que c'est la structure de l'ADN des mitochondries.

Il paraît simple d'obtenir des cellules recombinées doubles résistantes en croisant des cellules simples résistantes pour deux drogues différentes. Il suffit, théoriquement, de tester la descendance d'un croisement de ce type sur un milieu contenant les deux antibiotiques. De cette manière, seuls les doubles résistants peuvent se développer. Les difficultés qui apparaissent quand on met cette idée en pratique ont été surmontées, et le résultat de l'expérience confirme qu'on peut obtenir des recombinaisons entre gènes mitochondriaux.



Richard Colin

▶ ***Représentation schématique d'un croisement entre mutants mitochondriaux.***



◀ *La* recombinaison génétique *se produit entre des points homologues de deux chromatides appartenant chacune à un chromosome d'une même paire. Le mécanisme n'est pas exceptionnel, il est un processus fondamental sur le plan de la vie cellulaire. Ici, chromosomes de criquet mâle formant des* chiasmas *au stade* diplotène *de la prophase I de la méiose.*

Ces travaux ont permis de montrer qu'il était possible de retrouver non seulement le recombinant double résistant E^R P^R et les types parentaux E^R P^S et E^S P^R, mais aussi le deuxième type de recombinant, le double sensible E^S P^S.

En effectuant de nombreux croisements, en particulier avec des mutants résistants au chloramphénicol (C^R), qui se répartissent en plusieurs gènes, on a pu démontrer des cas de *liaison*. De plus, la carte que l'on peut établir actuellement avec tous les gènes mitochondriaux connus est *linéaire*.

La dernière donnée est la découverte récente du fait que la recombinaison mitochondriale est polarisée. Cela confirmerait un certain nombre de chercheurs dans l'idée qu'il existe une forte convergence de structures et de comportements entre les mitochondries et les Bactéries.

Autres systèmes d'hérédité extrachromosomique

Il existe bien d'autres systèmes d'hérédité extrachromosomique en dehors de celui que l'on peut attribuer au chromosome des mitochondries. Il y a, notamment, celui du *chromosome du chloroplaste*. Les investigations en cours à l'heure actuelle sur ce sujet montrent les très fortes analogies qui existent entre le chloroplaste et la mitochondrie. Il existe des facteurs à hérédité extrachromosomique que l'on peut attribuer à d'autres particules cytoplasmiques; c'est le cas, par exemple, du *caractère killer* localisé dans les particules *kappa* de la paramécie *Paramecium aurelia*. On a observé, enfin, des cas d'hérédité cytoplasmique que l'on ne peut attribuer ni à une particule, ni à une structure extranucléaire.

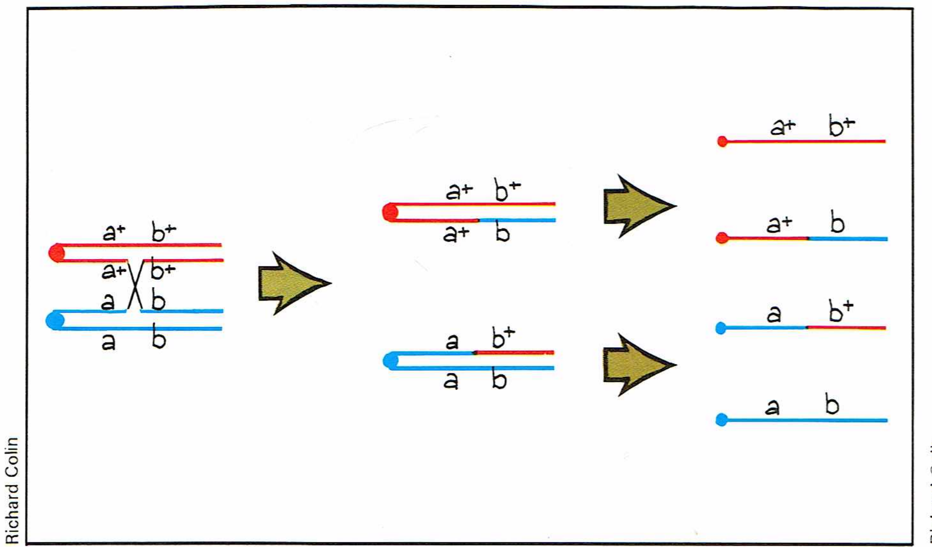
Le mécanisme de la recombinaison génétique

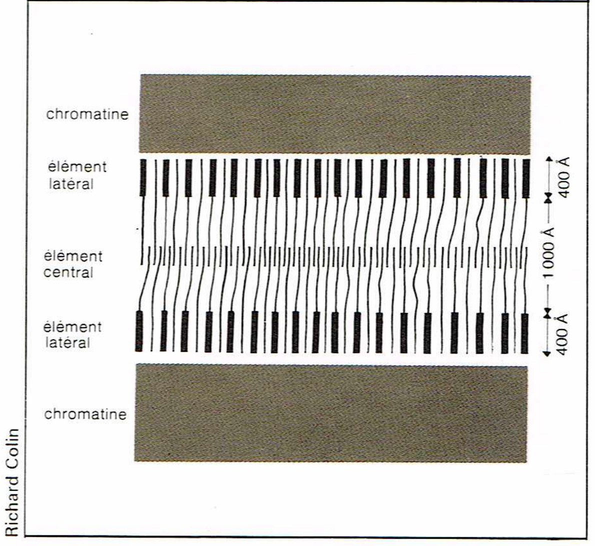
Ce que nous avons vu jusqu'à présent montre qu'une partie importante de la génétique est fondée sur l'existence des crossing-over, terme anglo-saxon qui recouvre une réalité assez difficile à cerner. En fait, l'échange de matériel héréditaire est un concept que l'on a été obligé d'utiliser dès que la liaison a été découverte. En effet, si l'on suppose que des gènes liés sont sur le même chromosome, on ne peut expliquer l'apparition de produits recombinés que par un mécanisme d'échange, réciproque ou non.

Le développement de la génétique des Ascomycètes et la possibilité de faire l'analyse des quatre produits d'une même méiose ont permis de préciser les modalités du crossing-over : il est apparu que celui-ci se produisait entre des points homologues de deux chromatides appartenant chacune à un chromosome d'une même paire. Avec l'étude de la génétique des Bactéries et des virus, le fait de la recombinaison génétique a été reconnu comme général. Il s'agit donc d'un processus extrêmement répandu dans le monde vivant, à tel point qu'on le trouve pratiquement toujours associé avec les phénomènes de reproduction. On a vu qu'il se produisait aussi pendant la phase végétative de certains organismes (recombinaison mitotique). Chez les organismes à méiose (Eucaryotes), les figures caractéristiques de la prophase de division I, appariements entre chromosomes et chiasmas, paraissent liées au crossing-over génétique. Il ressort de tout cela que le crossing-over n'est pas un mécanisme d'exception; c'est, en réalité, un processus fondamental sur le plan de la vie cellulaire. Il est aussi extrêmement important sur le plan de la structure des populations. Ce point sera explicité dans la partie concernant la génétique des populations.

L'échange génétique

Jusqu'à une date récente, la recombinaison entre gènes liés était attribuée entièrement à un crossing-over exactement réciproque. Il se produisait quelque chose entre deux points homologues des deux chromatides affectées. Dans un premier temps, il fallait imaginer des cassures simultanées des deux chromatides en ces points; puis il fallait que les chromatides se recollassent de façon à former des recombinés. La formation des chiasmas et leur structure, visibles au microscope au cours de la prophase de la première division de la méiose, paraissaient confirmer cette hypothèse.





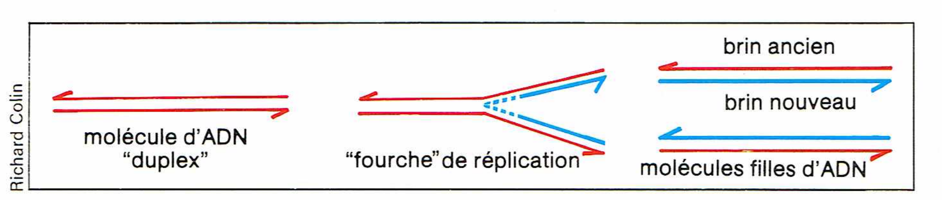
▲ *A gauche, représentation schématique d'un* crossing-over *réciproque, phénomène auquel, jusqu'à présent, était particulièrement attribuée la recombinaison entre gènes liés. A droite, interprétation de la structure des* complexes synaptinémaux, *structures cellulaires spécifiques de l'appariement des chromosomes au stade* pachytène *(d'après Westgaard et von Wettsein).*

▼ *Schéma de la* réplication semi-conservative *de l'*ADN*; il est valable pour tous les organismes, aussi bien dans le cas de la méiose que dans celui de la mitose.*

On sait maintenant que cette vision du processus est beaucoup trop simplifiée. L'explication du mécanisme du crossing-over doit tenir compte de faits nombreux et variés, tant biochimiques que cytologiques ou génétiques; elle doit en expliquer le plus grand nombre et n'en contredire aucun. Il est nécessaire d'en donner un bref résumé.

Données biochimiques

La première donnée concerne la *nature chimique des gènes*. Depuis les expériences de transformation chez le pneumocoque, on sait qu'il s'agit de l'ADN (Avery, MacLeod et MacCarty, 1944). On sait aussi que la structure de l'ADN est celle d'une double hélice (Watson et Crick, 1953), et que la réplication de l'ADN se fait selon un mode semi-conservatif (Meselson et Stahl, 1958) : cela signifie que les deux brins de chaque molécule d'ADN *duplex* sont séparés pendant la réplication, et que les nouveaux brins sont synthétisés le long des anciens. Chaque nouvelle molécule duplex comprend alors un brin ancien et un brin nouveau. Il est établi, à l'heure actuelle, que ce schéma est parfaitement valable pour tous les organismes, aussi bien dans le cas de la méiose que dans celui de la mitose.



La deuxième donnée est le *moment* auquel se fait la duplication de l'ADN. La synthèse de l'ADN des chromosomes s'effectue *avant* que la méiose commence, c'est-à-dire avant que le crossing-over se produise. On a néanmoins pu mettre en évidence une petite synthèse d'ADN, dite *synthèse résiduelle*, qui se produit au *stade zygotène*. Cela est très important, car ce stade est peut-être celui auquel se déroulent les crossing-over.

La troisième donnée est fournie par l'étude des *enzymes* qui apparaissent spécifiquement dans les cellules qui subissent ou vont subir la méiose. On a mis en évidence des enzymes capables de provoquer des cassures au niveau d'un des brins de l'ADN duplex, et d'autres capables de recoller, par une petite synthèse, les deux extrémités d'un brin cassé.

Effet des radiations

On sait depuis assez longtemps que l'irradiation par les rayons ultraviolets de cellules susceptibles de recombiner entraîne une augmentation sensible des recombinaisons, qu'il s'agisse de recombinaisons méiotiques ou mitotiques. Or, il est possible de faire agir les rayons UV pendant des temps très courts, et si l'on dispose de cellules dont la méiose est synchronisée, il est possible de les irradier à des stades très précis du déroulement de la méiose. On constate alors que l'augmentation de la recombinaison se produit si l'irradiation a été effectuée au *stade zygotène*, ou au début du *stade pachytène*. D'autre part, on sait qu'une des conséquences de l'action des rayons UV est l'apparition de cassures au niveau de l'un ou l'autre des brins d'une molécule d'ADN duplex. On peut exprimer ce phénomène en disant que, si on provoque des cassures au niveau de l'ADN pendant le stade zygotène, cela entraîne une augmentation des recombinaisons.

Observations cytologiques

La compréhension du comportement des chromosomes au moment de la méiose a d'abord été l'œuvre des cytologistes. C'est l'observation au micrococope qui a montré le phénomène de l'appariement des chromosomes d'une même paire. Cet appariement est très strict; il se fait entre régions homologues des chromosomes. Si l'on pense que les chromosomes sont un enchaînement de gènes, cela signifie que, lors de l'appariement, les deux allèles d'un même gène sont face à face. La cytologie a aussi montré que dès le début du stade pachytène les chromosomes sont constitués de deux chromatides. Ce sont des chercheurs penchés sur leur microscope qui ont décrit et interprété les chiasmas comme la visualisation d'un échange entre deux des quatre chromatides appariées. Si le pouvoir séparateur des objectifs du microscope ordinaire (photonique) est limité, le microscope électronique permet, grâce à son énorme grossissement, de distinguer des détails extrêmement petits.

Le microscope électronique n'a pas encore montré le détail de la structure des chromosomes, lesquels se présentent comme des masses uniformément colorées. Mais l'observation de chromosomes appariés au stade pachytène a fait apparaître des structures cellulaires spécifiques de cet appariement : les *complexes synaptinémaux*. Ces complexes ont été observés dans de très nombreuses espèces végétales et animales. Ils se présentent comme des structures allongées reliant les chromosomes appariés et parallèles à ceux-ci. Une analyse très précise montre qu'il existe un complexe synaptinémal par paire de chromosome. Le complexe a une structure en trois parties : un axe central, et deux éléments latéraux. Ce sont les éléments latéraux qui sont en contact étroit avec les chromatides appariées.

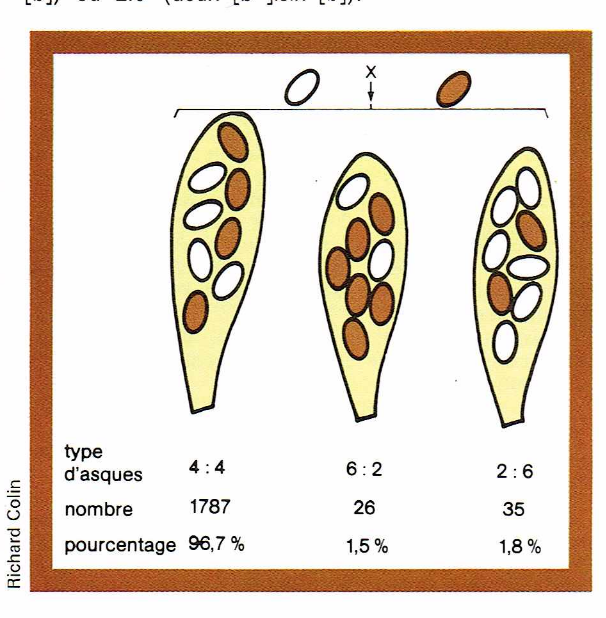
Il est évident qu'un contact étroit entre les chromosomes est un facteur indispensable pour que des recombinaisons puissent se produire. La découverte au stade pachytène de cette structure qu'est le complexe synaptinémal ne fait que renforcer cette idée.

La conversion génique

Les données génétiques qui ont conduit, dans les années 1950, à faire douter de la simplicité apparente du crossing-over proviennent de l'étude des Ascomycètes. Il s'agit de l'existence de ségrégations, apparemment non mendéliennes, de gènes portés par les chromosomes. Le phénomène aboutissant de ces ségrégations extraor-

dinaires a été appelé *conversion génique*. L'existence même de ces ségrégations et, à plus forte raison, leur interprétation ont été envisagées pendant des années avec scepticisme. Mais l'existence de la conversion génique a depuis été confirmée par de nombreux chercheurs, et le phénomène a été détecté chez de nombreux Ascomycètes. La difficulté du sujet rend nécessaire son exposition à partir d'un exemple concret.

Chez l'Ascomycète *Ascobolus immersus*, la conversion génique a été très étudiée. Nous allons reprendre l'exemple du croisement d'une souche mutante à spores blanches [b] par une souche « sauvage » à spores brunes [b^+]. Les asques d'*Ascobolus* contiennent huit spores uninucléées. Les asques du croisement [b] × [b^+] contiennent tous quatre spores [b] et quatre spores [b^+]. C'est la ségrégation mendélienne classique 1:1. Si l'on ramène cette ségrégation à l'asque pris comme unité, c'est une ségrégation 4:4, ce qui signifie la même chose; cela dénote la ségrégation d'un couple d'allèles b^+/b. Nous avons dit précédemment que *tous les asques* présentaient une ségrégation 4:4; cela n'est pas tout à fait vrai. Il apparaît, en effet, quelques asques présentant des ségrégations différentes, le plus souvent 6:2 (six [b^+]:deux [b]) ou 2:6 (deux [b^+]:six [b]).

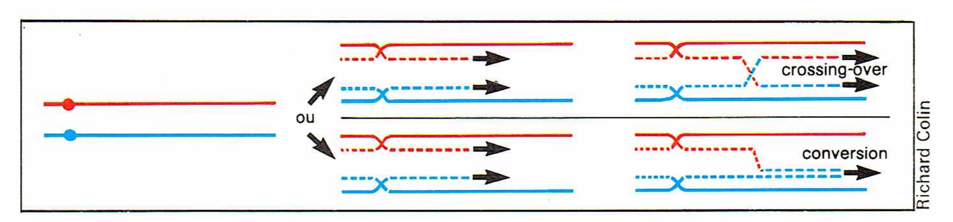


Il est clair que le crossing-over, compris comme un *échange* réciproque, ne peut rendre compte des ségrégations de ces quelques asques. Ils ne peuvent pas provenir non plus de *réversions* de *b* vers b^+, car la fréquence du phénomène est beaucoup plus élevée que celle des réversions. Chez *Ascobolus*, qui est sans doute l'organisme où les conversions géniques sont les plus fréquentes, leur fréquence est de l'ordre de 1 % à 10 %. On peut décrire le phénomène en disant qu'une chromatide a été *changée* (et non *échangée*), perdant son identité au profit de celle de ses homologues, avec celles des allèles qu'elle porte : *b* est devenu b^+, ou inversement. On dit que l'allèle *b* est converti en b^+, ou inversement.

Le copy-choice

L'hypothèse du *copy-choice* est une des premières qui aient été avancées pour expliquer la conversion génique. On pourrait traduire le terme par l'équivalent français « erreur de copie ». Cette théorie propose que la conversion s'est effectuée lors de la synthèse aboutissant au dédoublement des chromosomes en deux chromatides. Autrement dit, lorsqu'une paire de chromosomes homologues est en cours de duplication, le processus de copie pourrait se produire partiellement sur un chromosome homologue, et partiellement sur un autre. Si ce changement de modèle pour la copie est bilatéral, cela aboutirait à un crossing-over, et s'il est unilatéral, à une conversion.

▼ ***Représentation schématique de l'obtention des crossing-over et de conversions géniques dans l'hypothèse du « copy-choice ».***



Cette hypothèse, pour séduisante et simple qu'elle soit, est à rejeter absolument, car elle contredit de nombreux faits fondamentaux.

— Si elle peut expliquer aussi bien les conversions et les crossing-over, elle ne peut rendre compte des doubles crossing-over qui impliquent trois ou quatre chromatides;

— Elle suppose que la réplication de l'ADN est conservative, alors qu'il est maintenant clairement démontré que cette synthèse suit un schéma semi-conservatif;

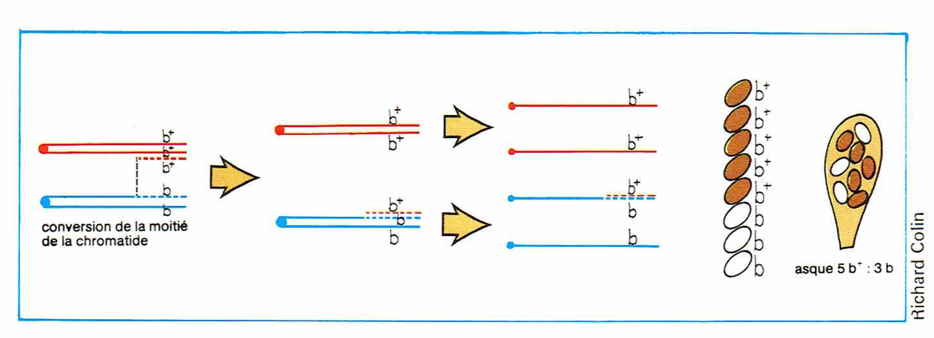
— Chez les Ascomycètes, c'est-à-dire les organismes où l'on démontre l'existence de la conversion, la réplication de l'ADN s'effectue *avant la formation du zygote* : les chromosomes homologues qui, dans l'hypothèse du copy-choice, devraient être en présence, sont encore dans des noyaux séparés; c'est cette dernière observation qui a définitivement écarté la théorie du copy-choice.

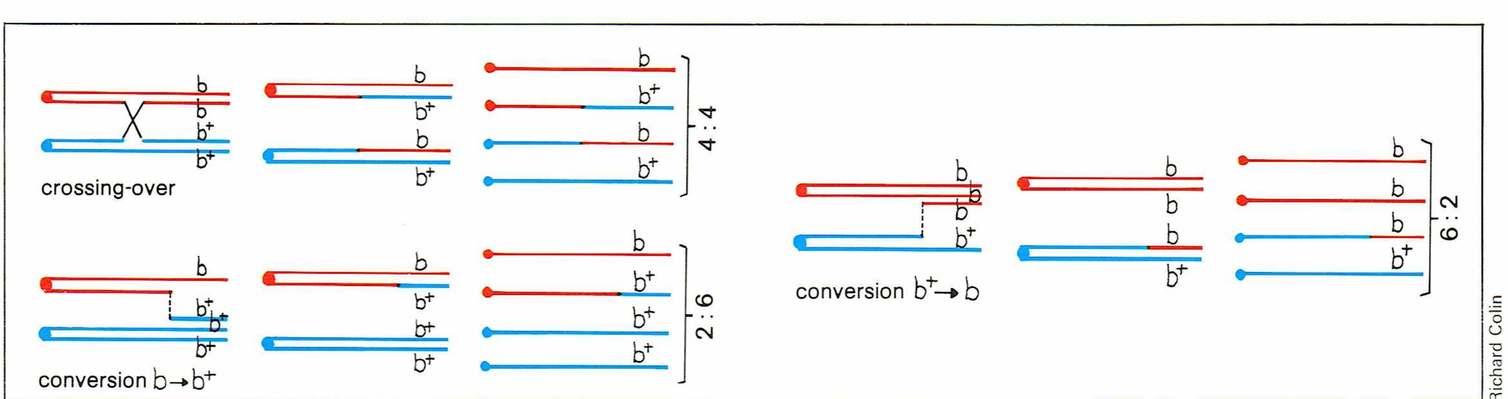
◀ ***La conversion génique a été très bien étudiée chez l'Ascomycète* Ascobolus immersus*; c'est l'organisme où le phénomène est le plus fréquent.***

Les ségrégations postméiotiques

Au cours de croisements *b* × b^+ chez *Ascobolus*, il apparaît des asques où la ségrégation des allèles n'est pas 4:4. Nous avons vu qu'il existait des asques 6:2 (six [b^+]:deux [*b*]) et des asques 2:6 (deux [b^+]:six [*b*]). Dans certains croisements, il en apparaît d'autres sortes encore : on trouve occasionnellement des asques montrant des ségrégations 5:3 ou 3:5.

▼ ***En haut,* ségrégation postméiotique, *ou conversion de la moitié de la chromatide chez* Ascobolus immersus. *En bas, une forme de représentation schématique du* crossing-over *(ségrégation 4:4)* et de la conversion génique *(ségrégations 2:6 et 6:2).***





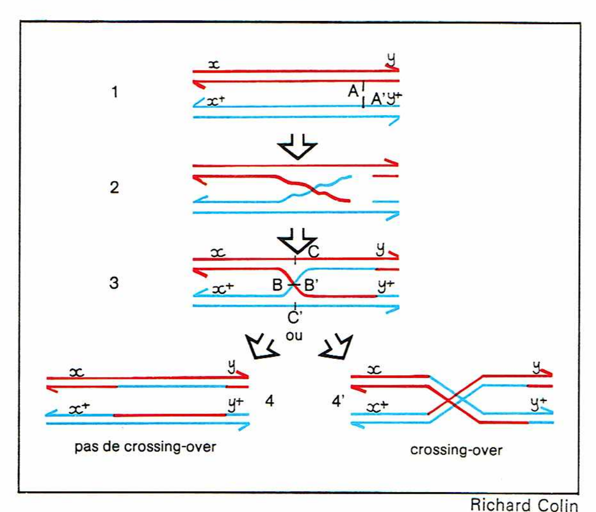
Comme le montre le schéma (page 271), cela signifie nécessairement qu'un des produits de la méiose était hétérozygote *b/b⁺*, et que les deux allèles se sont séparés *après la méiose,* à l'occasion de la mitose postméiotique. C'est pourquoi les ségrégations impaires sont appelées *ségrégations postméiotiques*. Cela signifie aussi que la conversion qui est à l'origine de tels asques n'a affecté que *la moitié* d'une chromatide. Le phénomène de conversion de la moitié de la chromatide suggère fortement que celle-ci est formée de deux sous-unités, douées d'une autonomie relative. Il est possible d'obtenir des chromatides « hétérozygotes » pour un couple d'allèles.

L'ADN hybride

Au cours de la conversion génique, un segment d'information génétique d'une chromatide est remplacé par un segment homologue, copié à partir d'une chromatide du chromosome homologue. Au niveau des produits de la méiose, on constate la présence d'une copie supplémentaire et la perte d'une copie de l'homologue. D'autre part, l'existence de conversions affectant une moitié de la chromatide fait postuler que la chromatide peut être « hétérozygote ». Depuis que les expériences d'autoradiographie ont montré que les chromatides avaient le même mode de réplication semi-conservatif que la molécule d'ADN, il est admis que le matériel héréditaire d'une chromatide est constitué d'une seule molécule d'ADN duplex (double hélice). Si la chromatide peut être hétérozygote, c'est que la molécule d'ADN elle-même peut être hybride.

Une molécule hybride d'ADN est « hétérozygote » pour les marqueurs génétiques compris dans la longueur de cette molécule. L'existence des ségrégations postméiotiques suggère que cette molécule, appelée *hétéroduplex,* est formée d'un brin provenant d'un chromosome et d'un brin provenant de son homologue.

Une fois l'idée d'un ADN hybride ou hétéroduplex considérée comme possible, différentes hypothèses ont été émises pour expliquer la formation d'une telle structure, et surtout pour expliquer comment elle peut donner naissance à des conversions et des crossing-over. Étant donné que le simple énoncé des arguments avancés par les partisans de tel ou tel « modèle » de la recombinaison excéderait largement la taille du présent volume, nous nous bornerons à insister sur les points d'accord qui existent entre les différentes écoles. Ces points sont relativement nombreux, car un certain nombre de faits incontestables n'admettent qu'un nombre limité d'interprétations. En fait, les désaccords proviennent de particularités dans les hypothèses qui n'ont pas encore été vérifiées ou infirmées par des expériences.



▶ **Formation de l'ADN « hybride » : deux régions d'ADN hétéroduplex se forment à la suite d'un processus de cassure, puis de recollement (2) aboutissant à la constitution du demi-chiasma (3). Celui-ci peut se résoudre de deux façons (4 et 4').**

Richard Colin

▶ **A gauche, formation de mauvais appariements dans la zone d'ADN hybride si elle contient un site mutant x à l'état hétérozygote. A droite, correction des distorsions provoquées par les sites d'hétérozygotie grâce à des mécanismes d'excision, puis de synthèse.**

Richard Colin

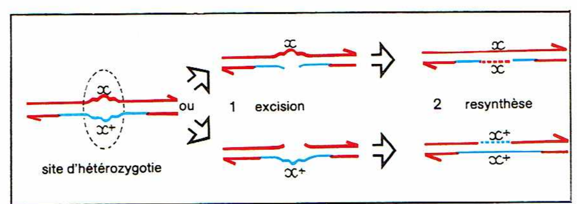
Un des deux archétypes de modèles est celui proposé, en 1964, par Holliday. Il a subi, depuis cette date, de nombreux rajouts et variations à mesure que des expériences nouvelles venaient apporter des précisions ou des contradictions. D'après Holliday, le processus commencerait par des cassures affectant un des deux brins de chaque molécule d'ADN duplex *en des points homologues* (A et A'). Il s'ensuivrait une dénaturation partielle (étape 2), suivie d'un recollement des brins affectés. Si la renaturation s'effectue normalement, rien ne sera changé et les ADN duplex seront identiques aux molécules d'origine. Cependant, la reconstitution peut s'effectuer par une renaturation illégitime, auquel cas le résultat est la formation de deux ADN *hétéroduplex hybrides* (étape 3). Mais la structure de l'ADN ainsi reconstitué ne peut pas persister (un duplex est en fait une chromatide), car l'anaphase de la méiose va séparer les chromosomes homologues (voir schéma, à gauche, en haut).

Les deux ADN hybrides qui sont reliés par chacun de leurs brins ne peuvent pas se séparer sans cassures. Les points où les deux molécules hétéroduplex sont retenues ensemble sont appelés *demi-chiasmas* (car ils n'affectent que la moitié de la chromatide). Lorsque les chromatides tendent à se séparer, le demi-chiasma doit être éliminé. La résolution du demi-chiasma se fait par des cassures suivies de recollement en des points homologues des brins constituant l'ADN. Il y a deux solutions : soit des cassures en *B* et *B'*, soit des cassures en *C* et *C'*. Si la résolution du demi-chiasma se fait par des cassures en B et B', on aboutit à la situation (4), où il subsiste deux segments d'ADN hybrides, mais où les associations des marqueurs extérieurs (x/x^+ et y/y^+) à ce segment restent celles d'origine. Si la résolution du demi-chiasma se fait par des cassures en C et C', le résultat schématisé en (4') montre qu'il s'agit d'un *crossing-over :* les marqueurs latéraux au segment d'ADN hybrides sont maintenant en association *recombinée* par rapport à l'association du début (parentale).

C'est ainsi que Holliday explique le crossing-over. Mais comment rendre compte de la conversion et de la ségrégation postméiotique ?

Plaçons un marqueur génétique *dans* la zone d'ADN hybride. Si un des chromosomes porte un allèle x et son homologue un allèle x^+, cela signifie que l'information contenue dans l'ADN des chromatides homologues n'est pas *identique*. Il existe donc des différences dans la séquence des bases nucléotidiques des ADN homologues. Au niveau des séquences de bases différentes d'un ADN hybride, même si la différence est petite, cela va se traduire par des mauvais appariements entre les deux brins qui ne sont plus strictement complémentaires. Au niveau de la structure de l'ADN hybride, il va se produire des distorsions. On dit qu'un *site d'hétérozygotie* modifie *localement* la structure de l'ADN hybride.

On sait maintenant qu'au niveau cellulaire il existe des systèmes enzymatiques capables de *réparer des lésions* existant au niveau de l'ADN, ainsi que certaines anomalies de structures. Il est donc possible de supposer que de tels systèmes enzymatiques pourraient *réparer les mauvais appariements* qui existent dans un ADN hybride au niveau des sites d'hétérozygotie. Cette « réparation » pourrait se faire de telle manière qu'elle rétablirait l'homozygotie, et donc des brins parfaitement complémentaires dans l'ADN hybride, entraînant ainsi la disparition des distorsions structurales. Cela suppose que ce *mécanisme de correction* agisse en deux étapes. Premièrement, une *excision* de l'un des deux brins au niveau du mauvais appariement, puis une resynthèse destinée à reformer, *par copie sur le brin restant*, un ADN duplex. Cette synthèse se faisant par complémentarité, l'ADN duplex est *ipso facto* doté d'une structure parfaite : le mauvais appariement a disparu. En même temps, l'ADN est redevenu « homozygote » et la chromatide « pure ».



Richard Colin

On suppose que les sites d'hétérozygotie x/x^+ peuvent être *corrigés* dans les deux sens $x \rightarrow x^+$ ou $x^+ \rightarrow x$. Comment cela va-t-il se traduire au niveau de la ségrégation dans un asque des allèles x et x^+ ? La figure ci-dessous schématise les différents cas qui peuvent se présenter.

— Les deux sites d'hétérozygotie sont *corrigés :* cela peut aboutir à des asques $6x^+:2x$ (a), $2x^+:6x$ (b) ou encore $4x:4x^+$ (c) (conversions géniques).

— Un seul des sites d'hétérozygotie est corrigé : on peut obtenir alors des asques $5x:3x^+$ (d) ou $3x:5x^+$ (e), soit des ségrégations postméiotiques ou des conversions de la moitié de la chromatide.

— Aucun des sites n'est corrigé : on obtient alors un asque $4x:4x^+$ (non représenté sur le schéma).

On mesure maintenant toute l'ingéniosité du modèle hypothétique proposé pour expliquer des ségrégations qui paraissaient aberrantes au premier abord. Outre ce premier intérêt, ce type d'hypothèse a le mérite d'être une tentative de clarification synthétique qui explique, plus ou moins bien, une grande partie des faits connus à ce jour. Elle présente, enfin, l'immense avantage d'être accessible à l'expérimentation et suscite, de ce fait, un effort de recherche grandissant dans une voie nouvelle.

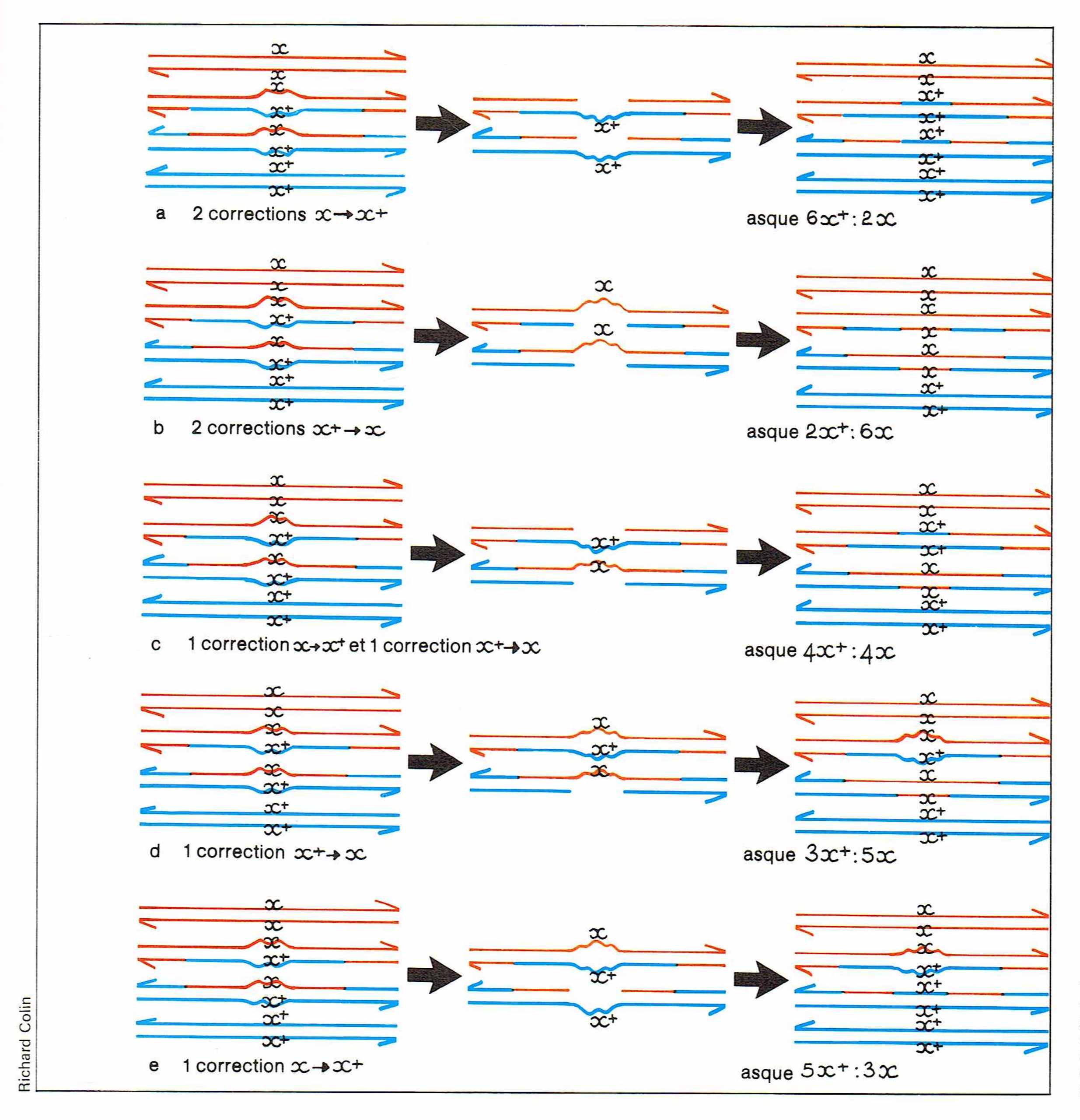
L'exemple que nous avons choisi, l'*échange génétique,* montre quelle est la force de la méthode d'analyse génétique. Dans ce cas précis, elle permet de passer d'une observation apparemment marginale (l'apparition avec une très faible fréquence d'asques qui ne présentent pas la ségrégation mendélienne classique 4:4) à une hypothèse explicative raisonnable au niveau de la molécule d'ADN. Et cela à l'aide seulement de quelques croisements et d'une bonne connaissance de la méiose, tant sur le plan de la génétique que sur ceux de la biochimie et de la cytologie. Cette méthode extrêmement précieuse peut s'appliquer à un très grand nombre de problèmes. L'ensemble du monde scientifique a pris conscience de sa valeur, et son application se répand.

La régulation de la recombinaison

Jusqu'à présent, nous avons peu parlé de la manière dont agissent les gènes. Ils ont été considérés comme véhicules de l'information héréditaire, nécessaire à la réalisation d'un caractère phénotypique. Comment s'opère la transformation de cette information présente sous la forme de séquences de nucléotides dans l'ADN en un caractère donné, par exemple la couleur des spores de l'Ascomycète *Ascobolus ?* Bien que le mécanisme précis de ce processus ait déjà été décrit, il est bon d'en rappeler les grandes étapes.

Un gène-une enzyme

C'est au cours des années 1940 qu'a été formulée la théorie : « un gène-une enzyme ». Cette expression signifie qu'un gène contrôle l'activité d'une enzyme. Si



◄ *Explication de tous les types de ségrégation grâce à la combinaison de deux hypothèses : la formation d'ADN hybride et la correction de mauvais appariements.*

le gène est présent sous une forme allélique, par exemple a^+, l'enzyme est présente et active. La mutation du gène en une forme allélique mutante a^- entraîne la disparition de l'enzyme ou son inactivation. La réaction chimique catalysée par cette enzyme est alors bloquée et la chaîne de biosynthèse s'arrête en un point précis. Cette théorie a été vérifiée depuis sous tous les aspects.

Le code génétique

L'information génétique présente dans l'ADN sous forme de séquences de nucléotides est donc traduite en une enzyme constituée d'une séquence d'acides aminés. Ces derniers étant au nombre de vingt, et les nucléotides au nombre de quatre seulement, il faut admettre que chaque gène communique son information par l'intermédiaire d'un *code* grâce auquel un groupement défini de nucléotides désigne un acide aminé spécifique. Il faut prendre les nucléotides par trois au moins pour avoir plus de vingt combinaisons possibles.

	U		C		A		G		
U	UUU	Phe.	UCU	Ser.	UAU	Tyr.	UGU	Cys	U
	UUC		UCC		UAC		UGC		C
	UUA	Leu.	UCA		UAA	*	UGA	*	A
	UUG		UCG		UAG	*	UGG	Tyr.	G
C	CUU	Leu.	CCU	Pro.	CAU	His.	CGU	Arg.	U
	CUC		CCC		CAC		CGC		C
	CUA		CCA		CAA	Gln.	CGA		A
	CUG		CCG		CAG		CGG		G
A	AUU	leu.	ACU	Thr.	AAU	Asp.	AGU	Ser.	U
	AUC		ACC		AAC		AGC		C
	AUA		ACA		AAA	Lys.	AGA	Arg.	A
	AUG	Met.	ACG		AAG		AGG		G
G	GUU	val.	GCU	Ala	GAU	Asp.	GGU	Gly	U
	GUC		GCC		GAC		GGC		C
	GUA		GCA		GAA	Glu	GGA		A
	GUG		GCG		GAG		GGG		G

I.G.D.A.

▶ *A gauche, les 64 triplets du code génétique; les codons marqués renvoient à des triplets « non-sens » qui ne correspondent à aucun acide aminé. A droite, représentation schématique du système de régulation inductible : cas d'une enzyme d'E. coli : la β-galactosidase.*

Dès que le problème fut posé en ces termes, de nombreux chercheurs mirent en œuvre conjointement patience, ténacité, génétique et biochimie, et déchiffrèrent le code. Ils ont ainsi pu vérifier que celui-ci consistait bien en *triplets de nucléotides contigus* et établir de façon complète la correspondance entre les différents triplets possibles et les acides aminés. Ils ont, en outre, démontré l'existence d'un intermédiaire : l'ARN messager, ou simplement messager. Une constatation, d'un autre ordre mais de première importance, est sortie de ces études : *le code est universel*. Les triplets de nucléotides ont la même signification chez un virus, chez une souris, l'homme ou un Champignon. Il s'agit là d'une preuve de l'unité du monde vivant, et d'un argument extrêmement puissant en faveur de l'idée d'une origine commune à tous les êtres vivants, c'est-à-dire en faveur de l'idée d'*évolution* à partir d'un ancêtre commun.

La régulation de l'activité des gènes

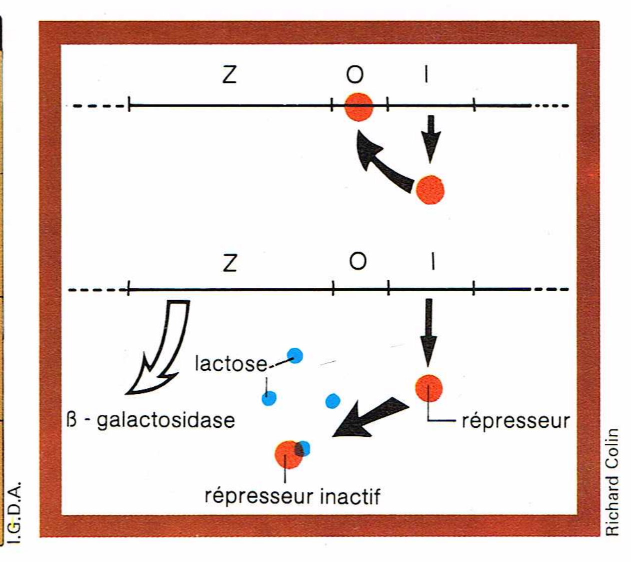
J. Beisson écrit : « Une cellule apparaît un peu comme un sac plein d'enzymes, renfermant un autre sac plus petit, plein de gènes. Mais ce sac est hautement structuré, et, à tous les niveaux d'organisation, l'ordre y règne. » De fait, la vie cellulaire est un équilibre, sans cesse remis en question, entre l'immobilisme et l'emballement. La cellule est capable de s'adapter à des conditions variées de son environnement, ce qui implique qu'elle est capable de modifier son métabolisme en fonction des conditions extérieures. Le flux du métabolisme présente un fonctionnement intégré, cohérent. Il est soumis à de nombreuses interactions contrôlant l'activité de la matière vivante. (Ces procédés de régulation commencent à être connus.)

Alors que toutes les cellules d'un même organisme contiennent la même information génétique, elles ne sont pas identiques, du point de vue de la forme, de la composition chimique, ou de l'activité. Cela est dû au fait que ces différentes cellules n'expriment pas la même information. A un moment donné, dans un type cellulaire donné, certains gènes sont traduits alors que d'autres sont inactifs. Un gène peut être présent soit dans un contexte sous une forme telle qu'il peut être traduit, soit dans un état tel qu'il est « muet ». Nous allons envisager deux mécanismes qui permettent de passer de l'une à l'autre : l'*induction* et la *répression*.

L'induction

Il existe des systèmes enzymatiques dits *inductibles*. Les enzymes n'y sont synthétisées que dans certaines conditions précises; en présence d'un corps appelé *inducteur*. La situation la plus simple est réalisée quand l'inducteur est le substrat de l'enzyme, c'est-à-dire le corps destiné à être transformé par la réaction.

On a pu démontrer que la synthèse d'une enzyme de *E. coli*, la β-galactosidase, est inductible, c'est-à-dire qu'elle est synthétisée par la cellule quand le milieu nutritif contient du lactose. L'enzyme coupe la molécule de ce sucre, qui donne alors du glucose et du galactose. Si le milieu ne contient pas de lactose, la β-galactosidase n'est plus synthétisée par la cellule (voir ci-dessous).



Richard Colin



P. Castano

▶ *Si toutes les cellules d'un même organisme contiennent la même information génétique, elles ne sont pas identiques du point de vue de la forme, de la composition chimique ou de l'activité : ici, cellule motrice de la corne antérieure de la moelle épinière (coloration de contraste).*

Le mécanisme précis de l'induction a été analysé par une approche génétique. Un modèle fonctionnel a été proposé, en 1961, par Jacob et Monod. Le gène *z* contient l'information qui code pour la structure de la β-galactosidase : c'est le *gène de structure* de l'enzyme. Le locus *o*, appelé *opérateur*, permet ou non que le gène de structure soit transcrit. Si le *répresseur*, produit du gène *i*, est fixé au locus *o*, le gène de structure *z* n'est

pas transcrit. Si le locus *o* est libre, l'information de *z* est utilisée pour fabriquer la β-galactosidase. C'est la présence de lactose qui détermine si le répresseur se fixe au locus opérateur. Si le lactose est présent, il forme avec le répresseur un complexe incapable de se fixer au locus *o* : le gène *z* est transcrit. Par contre, si le lactose est absent, le répresseur retrouve son affinité pour *o*, s'y fixe, et le fonctionnement de *z* est bloqué. Le répresseur, qui est une protéine, a maintenant été isolé.

La répression

La répression est un système de régulation qui fonctionne à l'inverse de l'induction. Toujours chez *E. coli*, on connaît des enzymes (par exemple, l'enzyme qui contrôle la dernière étape de la chaîne de biosynthèse d'un acide aminé, la méthionine, qui n'est plus synthétisée quand on ajoute la méthionine au milieu nutritif). L'activité du gène de structure de l'enzyme n'est plus réglée par le substrat de l'enzyme, mais par le produit final de la réaction. Un répresseur est toujours nécessaire, mais il ne présente aucune tendance à se fixer au locus opérateur, et l'enzyme est synthétisée. Si la méthionine est présente, elle forme avec le répresseur un complexe qui a une activité répressive. Il se fixe au locus *o* et l'activité du gène de structure est bloquée (voir ci-dessus).

Autres mécanismes

Ces deux mécanismes de régulation sont parmi les plus simples. Il existe bien d'autres exemples de régulation, qui paraissent plus compliqués. Il faut souligner qu'une cellule qui ne synthétise pas des enzymes, inutiles dans les conditions où elles ne sont pas nécessaires, possède sans aucun doute un très net avantage sélectif sur d'autres cellules qui ne seraient pas capables d'une telle économie d'énergie. Chez les organismes Eucaryotes, les recherches sont loin d'avoir atteint le niveau de celles qui ont été effectuées sur le métabolisme des Bactéries; il n'y a même pas encore de *preuves directes* que de tels mécanismes existent. Leur existence est cependant hautement probable. Ainsi, on a pu récemment étudier chez les Champignons plusieurs systèmes présentant de très fortes analogies avec ceux décrits chez les Bactéries.

La méiose et la recombinaison

Le déroulement de la méiose, s'il est bien décrit du point de vue cytologique, reste très mal compris en tant que fonction cellulaire. Le niveau de complexité du processus est bien supérieur à celui d'une chaîne de biosynthèse. Or, plus un système est complexe, plus les divers éléments qui le composent interagissent les uns sur les autres, et plus les « pannes » risquent d'être nombreuses. C'est là, plus que partout ailleurs, que des régulations strictes sont nécessaires parce que c'est là que l'ordre est le plus vital. L'existence de ces régulations est imposée par la nécessité d'une coexistence harmonieuse entre des processus aussi différents que la duplication de l'ADN, le comportement des chromosomes, la formation et le fonctionnement de l'appareil cinétique, la formation et la disparition des membranes nucléaires et, enfin, la recombinaison génétique elle-même.

En général, lorsque le généticien est confronté avec le problème d'une fonction cellulaire que l'on comprend mal, il isole des souches mutantes incapables d'accomplir cette fonction : si les mutants sont obtenus, il s'agit alors d'essayer d'identifier l'étape biochimique primaire dont le fonctionnement est perturbé ou bloqué.

Cette approche a porté ses fruits dans l'étude de la recombinaison génétique des Bactéries. Chez ces organismes, on a trouvé que certaines classes de mutants, isolées sur le critère de leur exceptionnelle sensibilité aux effets létaux des rayons UV ou à ceux des rayons X, étaient aussi déficientes pour la recombinaison. Ces radiations provoquent des lésions dans la structure de l'ADN : apparition de bases anormales, liaisons chimiques covalentes entre bases adjacentes, ce qui provoque de mauvais appariements, des distorsions structurales et des erreurs de réplication. Les rayons UV ou X provoquent aussi des cassures des brins d'ADN. Les mutants exceptionnellement sensibles sont simplement *des souches devenues incapables de réparer ces lésions*. Le fait que des mutants incapables de réparer des lésions de l'ADN soient simultanément déficients pour la recombinaison indique qu'il existe sans doute des étapes enzymatiques communes aux deux phénomènes, ce qui était une des suppositions émises dans le cadre de l'hypothèse de l'ADN hybride, lors de la recombinaison.

Quelques-unes des enzymes impliquées dans ces mécanismes ont été identifiées. Il s'agit bien d'enzymes dont le substrat est l'ADN.

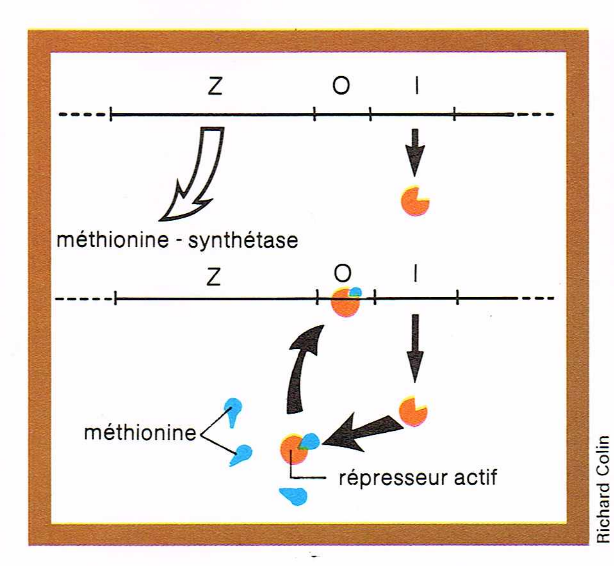
Signalons, enfin, que la relation qui existerait entre les mécanismes de réparation de l'ADN et la recombinaison est en passe d'être confirmée chez les Bactéries.

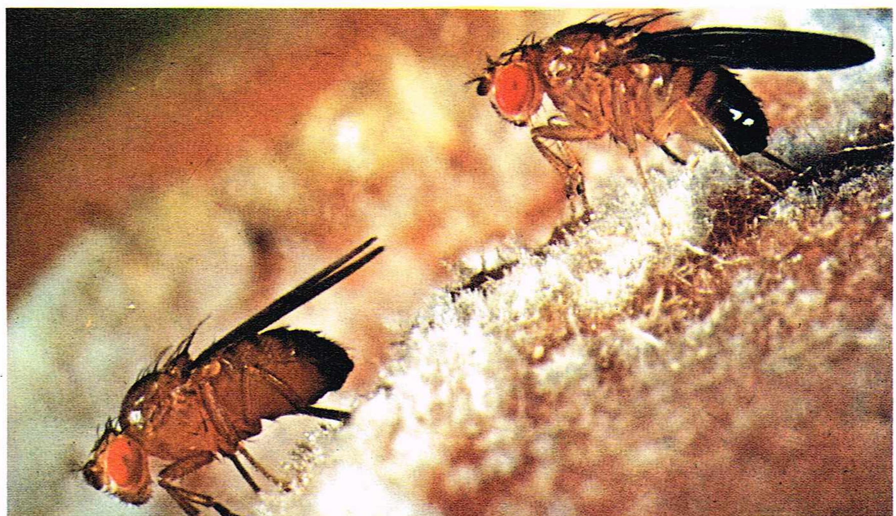
Le cas du mâle de la drosophile

S'il en était besoin, il est un fait qui, à lui seul, prouverait qu'il y a une régulation de la recombinaison génétique : il s'agit de l'existence même du mâle de la drosophile. En effet, *il n'y a pas de crossing-over chez les drosophiles mâles*.

L'absence complète de recombinaison entre gènes liés chez les mâles, alors qu'elle existe chez les femelles, implique obligatoirement la régulation de l'activité des gènes qui gouvernent cette fonction. De cette observation, on peut tirer une autre conclusion : il est possible de dissocier les deux phénomènes de la recombinaison et de la méiose, car cette dernière se déroule normalement. De plus, cela permet d'avancer l'idée que leur habituelle association est, en fait, une régulation.

D'autre part, il existe chez ce même organisme des souches mutantes qui présentent la même anomalie que les mâles. Ce sont les mutants *c*(3) de Gowen. Dans les souches mutantes, il n'y a jamais de recombinaisons entre les gènes liés, aussi bien chez les mâles (où c'est la situation normale) que chez les femelles. Dans ce cas, le microscope électronique montre que les complexes synaptinémaux, qui existent chez les individus normaux, sont absents. Cela permet d'établir une corrélation directe entre l'existence du crossing-over et celle des complexes synaptinémaux. Le rôle probable de ces structures lors





▲ *A gauche,* **système de régulation répressible.** *A droite, l'existence même du mâle de drosophile prouverait qu'il y a* **régulation de la recombinaison génétique :** *en effet, il n'y a pas de crossing-over chez les drosophiles mâles.*

▶ *Un champ de maïs : on note que la hauteur des cimes varie graduellement en fonction des petites variations du milieu qui existent d'un pied à l'autre et non du génotype qui est le même pour toutes les graines.*



Marka

de l'appariement des chromosomes homologues se trouve confirmé et précisé : en effet, ces structures paraissent liées non seulement aux appariements, mais aussi aux crossing-over.

Le contrôle des fréquences de recombinaison

Les cas de régulation que l'on vient de voir sont des régulations par le « tout ou rien ». En fait, il s'agit d'un contrôle relativement grossier du phénomène. On a découvert chez les Ascomycètes une autre sorte de régulation, qui agit de façon beaucoup plus subtile. Chez *Neurospora crassa,* il existe des gènes appelés gènes *rec,* qui exercent *un contrôle de la fréquence des recombinaisons* dans une région déterminée d'un chromosome. Selon la forme allélique de ces gènes *rec* présente dans une souche, la fréquence de recombinaison dans une petite région d'un chromosome peut varier, selon les cas, d'un facteur 3 à 10.

On n'a pas observé de corrélation évidente entre l'activité du ou des gènes localisés dans une région d'un chromosome et la fréquence des recombinaisons qui s'y produisent. Le fait qu'un segment de chromosome participe ou non à une recombinaison avec son homologue dépend certainement de l'état structural exact du chromosome (spiralisation, etc.). Il est facile d'imaginer qu'il peut être affecté, dans le détail, par de nombreuses causes.

L'existence de nombreuses différences alléliques affecte la recombinaison dans plusieurs souches, et il serait surprenant que cela n'eût pas des conséquences graves pour l'espèce et sa structure génétique. On peut penser que, au moins à long terme, des contrôles spécifiques de la recombinaison ont une signification adaptative considérable.

Hérédité quantitative

Jusqu'à maintenant, nous n'avons considéré que des caractères à variabilité discontinue, comme la présence ou l'absence d'une caractéristique donnée, ou l'opposition entre deux formes ou deux couleurs. C'est ainsi que les pois étudiés par Mendel étaient lisses ou rugueux, jaunes ou verts, sans que, dans ses expériences, soient apparus de caractères intermédiaires tels que toute la gamme de couleurs qui peut exister entre le jaune et le vert. En fait, dans tous les exemples des chapitres précédents, les indi-

vidus ne différaient entre eux que par un nombre limité de gènes (dans la plupart des cas par un seul gène) responsables de l'aspect pris par le caractère étudié.

La génétique quantitative s'intéresse aux caractères qui ne peuvent pas être classés en deux ou trois catégories bien définies, et qui, entre les deux extrêmes qu'ils peuvent atteindre, existent sous toutes les formes intermédiaires et peuvent ainsi être évalués quantitativement. La variation continue que l'on observe ainsi dans une population naturelle, pour un caractère donné, est due au fait que le caractère est gouverné par un *grand nombre de gènes* et qu'au niveau de chacun de ces gènes il existe dans la population *plusieurs allèles*. D'autre part, ces gènes inter-agissent souvent les uns sur les autres, et même dans les cas où ils n'ont, les uns par rapport aux autres, que des effets cumulatifs il n'est pas possible de discerner les différences existant entre les effets respectifs des allèles d'un gène donné ; ces différences sont le plus souvent trop petites et ne sont pas distinguables des effets du milieu.

Par exemple, dans un champ de maïs où les conditions ambiantes sont à peu près uniformes, on note que la hauteur des cimes varie graduellement entre certaines limites extrêmes. Ces différences sont dues aux petites variations de milieu qui existent d'un pied à l'autre, car les graines de maïs qui sont fournies actuellement aux cultivateurs ont, pour une variété donnée, toutes le même génotype. La différence la plus nette que l'on observe est la différence de longueur entre les pieds de la bordure du champ et ceux du milieu du champ. On peut ainsi définir, pour une variété donnée et dans des conditions données, une certaine longueur moyenne. Pour une autre variété, cette longueur moyenne sera différente : cette différence entre les longueurs moyennes est due au fait que les génotypes des variétés utilisées sont différents, c'est-à-dire qu'ils ne possèdent pas les mêmes allèles au niveau d'un certain nombre de gènes.

Emerson et East étudièrent un autre caractère quantitatif du maïs : la longueur de l'épi. Ils croisèrent deux variétés sélectionnées : l'une avait des épis dont la longueur moyenne était de 6,63 cm, et l'autre avait des épis dont la longueur moyenne était de 16,80 cm. Les descendants de ce croisement présentaient une longueur moyenne de l'épi égale à 12,50 cm, ce qui correspond presque à la moyenne arithmétique des tailles des épis des deux parents.

Les hybrides obtenus étaient hétérozygotes pour toute une série de gènes et, en particulier, pour ceux qui étaient responsables de la différence entre les longueurs des épis des deux parents. La variabilité par rapport à cette valeur moyenne que l'on peut observer chez les individus hybrides de première génération (F1) est due uniquement aux différences de conditions de culture de chaque pied de maïs. Par contre, en autofécondant ces hybrides F1, on obtenait des hybrides F2 dont la longueur moyenne était peu différente de la longueur moyenne des individus F1, mais dont la variabilité observée d'un épi à l'autre par rapport à cette valeur moyenne était beaucoup plus grande que dans le cas des hybrides F1, car elle n'était plus due uniquement aux conditions de milieu. En effet, alors que les hybrides F1 ont tous le même génotype, c'est-à-dire sont hétérozygotes pour un grand nombre de gènes, dans les hybrides F2 on retrouve toutes les combinaisons possibles entre les différents allèles des différents gènes responsables de la longueur de l'épi.

Si l'on fait abstraction des facteurs externes tels que l'alimentation, la taille de l'homme constitue un autre exemple d'hérédité quantitative, ou multifactorielle. Pour étudier le mécanisme d'action de l'ensemble des facteurs qui sont responsables de ce caractère, supposons qu'il n'existe que deux gènes responsables de cette taille. Cela sous-entend qu'au niveau de chaque gène on peut trouver dans la population deux sortes d'allèles. On suppose donc que c'est l'existence de ces allèles différents qui est responsable des différences de taille. Soit *a* et *A* les deux allèles d'un des gènes et *b* et *B* les allèles de l'autre gène. Supposons, d'autre part, qu'aussi bien *a* que *b* contribuent pour 40 cm de la taille totale et que *A* et *B* contribuent chacun pour 50 cm. L'espèce humaine étant diploïde, chacune de ces cellules contient deux exemplaires de chacun des deux loci, et il existe de ce fait neuf génotypes possibles. Ces neuf génotypes et leur taille correspondante sont schématisés comme suit :



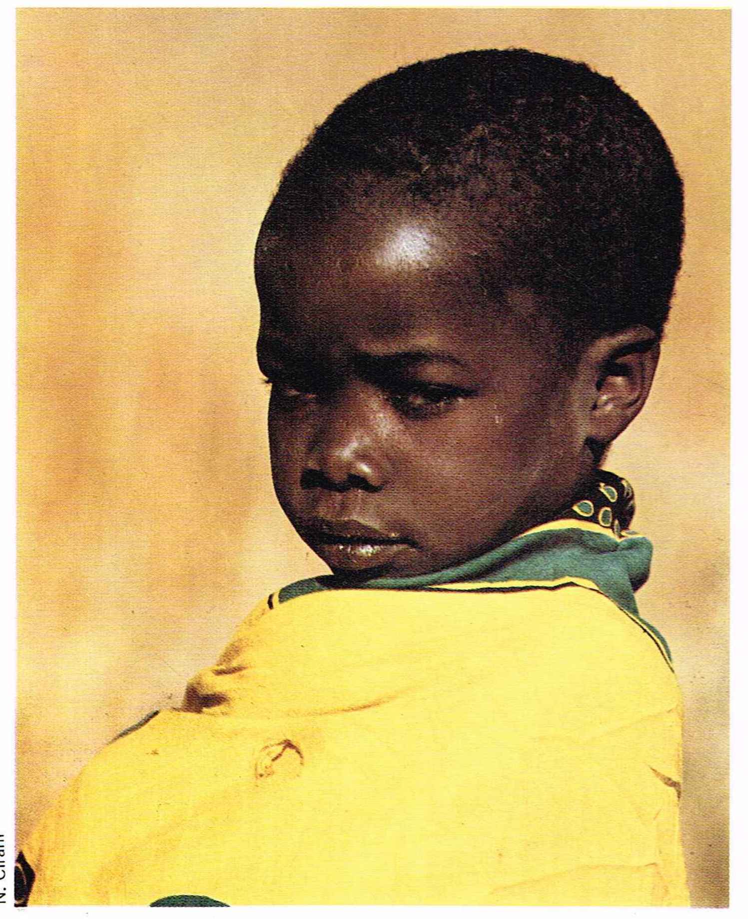
L. Pellegrini

$\frac{AB}{AB}$	$\frac{aB}{AB}$ $\frac{Ab}{AB}$	$\frac{ab}{AB}$ $\frac{aB}{aB}$ $\frac{Ab}{Ab}$	$\frac{ab}{aB}$ $\frac{ab}{Ab}$	$\frac{ab}{ab}$
2,00 m	1,90 m	1,80 m	1,70 m	1,60 m

▲ ***Si l'on fait abstraction des facteurs externes, la taille de l'homme constitue un exemple d'hérédité quantitative ou multifactorielle : on en voit ici la mise en évidence en comparant un individu de taille normale et un « géant ».***

En fait, le nombre de gènes qui conditionnent la taille est bien supérieur à deux, et on se rend compte, de ce fait, que la série possible de tailles est continue et non pas discontinue (avec cinq classes comme dans la simplification ci-dessus où seulement deux gènes intervenaient).

De la même façon, toujours dans l'espèce humaine, il est possible de décrire l'hérédité du caractère « couleur de la peau » en termes de doses. L'intensité de ce caractère qui varie du « noir » au « blanc » est attribuée à la quantité plus ou moins abondante de mélanine, un pigment noir qui s'accumule au niveau de la peau. Si nous faisons abstraction de l'influence du milieu (rayons UV), la différence de ton entre le noir intense de la peau des « Noirs » et la couleur pâle des populations « blanches » peut s'interpréter suivant le modèle de Curt Stern par l'existence d'au moins quatre couples d'allèles localisés sur des chromosomes différents : les individus à la peau blanche seraient homozygotes pour les allèles « inactifs », c'est-


N. Cirani


I.C.P. - J. Mechling

▲ *Ces deux illustrations montrent que, dans l'espèce humaine, il est possible de décrire l'hérédité du caractère « couleur de la peau » en termes de doses : l'intensité de ce caractère qui varie du « noir » au « blanc » est attribuée à une plus ou moins grande quantité de mélanine accumulée au niveau de la peau ; à gauche, un jeune garçon de race noire, à droite une fillette de race blanche.*

à-dire ceux qui entraînent l'incapacité d'accumuler la mélanine, et auraient donc le génotype $\frac{a}{a}\frac{b}{b}\frac{c}{c}\frac{d}{d}$, alors que les individus à la peau noire seraient homozygotes pour les allèles « actifs » et auraient donc le génotype $\frac{A}{A}\frac{B}{B}\frac{C}{C}\frac{D}{D}$. Les mulâtres, issus de mariages entre « Noirs » et « Blancs », seraient hétérozygotes pour tous ces gènes et auraient le génotype $\frac{a}{A}\frac{b}{B}\frac{c}{C}\frac{d}{D}$. Dans le cadre de cette hypothèse, le mariage entre mulâtres donnerait toute une gamme de couleurs, et chaque ton extrême ne serait atteint qu'une fois sur 81 naissances.

La base génétique de la sélection artificielle

Quand l'homme intervient dans la reproduction d'une population animale ou végétale et lui impose des règles afin d'en retirer certaines combinaisons qui lui sont favorables, il opère une *sélection artificielle*.

Cette pratique est très largement employée dans l'amélioration du cheptel, des animaux domestiques et des plantes. Les problèmes rencontrés au cours d'une sélection sont relativement aisés à résoudre si le caractère à conserver ou à éliminer est sous la dépendance d'un nombre très réduit de gènes. Mais, dans la plupart des cas, les caractères à sélectionner sont des caractères quantitatifs, tels que le poids de viande, la vitesse de croissance, la quantité d'œufs pondus par an, la production journalière de lait, etc. Ces caractères sont sous la dépendance d'un grand nombre de gènes.

Un autre écueil attend le sélectionneur : la sélection pour un caractère donné peut entraîner d'autres modifications, antagonistes avec l'effet recherché. C'est ainsi qu'une sélection prolongée (à des fins commerciales) de poules aux œufs plus lourds peut, à la longue, réduire les premiers effets obtenus à cause de la diminution de leur production, de la baisse de vitalité des productrices ou de l'augmentation de la fragilité des œufs.

Au début de ce siècle, Johannsen démontra dans quelles conditions la sélection pouvait être efficace. Il fit une série d'expériences sur le haricot de la variété « princesse » et s'intéressa à un caractère quantitatif de la semence : le *poids*. Des expériences préliminaires lui ayant indiqué que les plantes provenant des pois les plus lourds avaient des graines plus lourdes que celles des plantes issues des pois les plus légers, il tenta une sélection pondérale à partir des graines d'une même gousse. Ces plantes ayant été reproduites par autofécondation, des plantes issues de ces graines il ne conserva pour les générations suivantes que les graines les plus lourdes et les graines les plus légères.

A chaque génération, en opérant la même sélection, il effectua une mesure du poids moyen des graines produites respectivement par les plantes de la « lignée lourde » et les plantes de la « lignée légère ». Il constata que, quelle que fût la lignée, le poids moyen des graines restait égal à 0,37 g et donc que sa sélection avait été inefficace.

Cela s'explique aisément si l'on suppose que les plantes qu'il avait utilisées étaient homozygotes pour tous les gènes responsables du poids de la graine. La variabilité observée au niveau du poids des graines n'avait pas une base génétique ; elle était due aux conditions extérieures (variabilité phénotypique). En effet, la sélection ne peut avoir un effet que si elle s'opère sur une population à l'intérieur de laquelle le caractère sélectionné varie pour des raisons génétiques. L'échec de la sélection opérée par Johannsen est donc dû au fait que, dans la gousse à partir de laquelle il a constitué ses différentes lignées, les différentes graines d'une part avaient les mêmes génotypes et d'autre part étaient homozygotes pour tous les gènes responsables du poids de la graine.

Cette homozygotie s'explique par le mode de reproduction utilisé avant l'expérience de sélection : l'autofécondation. L'autofécondation chez les plantes, comme les croisements consanguins chez les animaux, entraîne inévitablement une augmentation du nombre de gènes homozygotes, ce qui se comprend aisément si l'on envisage, par exemple, l'effet de tels types de croisement sur un couple d'allèles. Considérons une plante hétérozygote *Aa*. Si elle se reproduit par autofécondation, 1/4 de sa

◀ *Un élevage moderne de poules pondeuses : la* **sélection artificielle,** *qui impose des règles à la reproduction d'une population animale ou végétale, est une pratique très largement employée.*

Marka

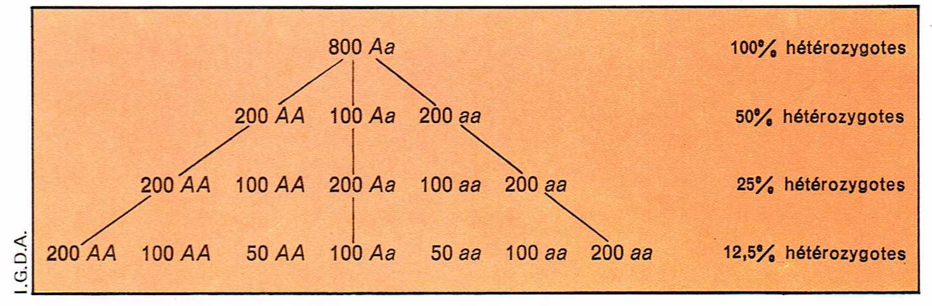
descendance sera constitué d'individus homozygotes *aa,* 1/4 d'individus homozygotes *AA* et 1/2 d'individus hétérozygotes *Aa*. Les individus homozygotes *AA* et *aa* ne peuvent donner par autofécondation que des individus *AA* et *aa*. Les individus *Aa* donneront, comme la plante de départ, 1/2 d'individus homozygotes *AA* ou *aa* et 1/2 d'individus hétérozygotes *Aa*. A cette seconde génération, il n'y a donc déjà plus qu'un quart (1/2 × 1/2) de la population qui est hétérozygote. A chaque génération suivante, le nombre d'hétérozygotes diminue de moitié.

Le schéma ci-contre symbolise cet état de fait; on suppose que la population comprend en permanence 800 individus et qu'au départ tous les individus sont hétérozygotes.

Après un nombre suffisant de générations, il n'y aura donc plus aucun individu hétérozygote *Aa,* une partie de la population sera *AA* et l'autre sera *aa*.

Cela montre comment l'homme, en favorisant l'autofécondation et les croisements consanguins pour obtenir des lignées pures économiquement intéressantes, entraîne une augmentation du degré d'homozygotie, laquelle peut provoquer des effets néfastes car alors les gènes récessifs défavorables, silencieux (quand ils sont à l'état hétérozygote en face de l'allèle dominant favorable), peuvent s'exprimer et entraîner l'expression de toutes sortes de tares. Cette augmentation du degré d'homozygotie peut provoquer aussi une baisse de la vigueur, indépendamment de la présence de tel ou tel gène néfaste. Cette baisse de vigueur des lignées ayant un degré trop élevé d'homozygotie est encore mal comprise, de même que l'augmentation de la vigueur (vigueur hybride) que l'on observe quand on augmente le degré d'hétérozygotie.

C'est ainsi que souvent, en particulier en agriculture, ce ne sont pas les lignées sélectionnées qui sont utilisées à des fins commerciales mais des hybrides de première génération, obtenus en croisant les lignées sélectionnées.



▲ *Tableau montrant qu'après un nombre suffisant de générations, il n'y aura plus aucun individu hétérozygote* **Aa.**

▶ *Quelques exemples des fréquences des différents allèles dans différentes populations humaines.*

Populations	Pourcentage des différents allèles		
	O	A	B
Méditerranée			
Basques	76	22	2
Berbères	72	27	7
Caucase	67	27	6
Afrique du Sud			
Boschimans	75	20	5
Malaisie	63	17	20
Amérique du Nord			
Amérindiens : Navahos	83	17	0
Polynésie	63	37	0
Aborigènes australiens	62	38	0

Richard Colin

Les propriétés de l'hybride dépendent évidemment des propriétés particulières de chacune des lignées parentales.

L'utilisation des hybrides est courante dans les cas du maïs, de l'oignon, du concombre et du pin. La descendance de ces hybrides ne pourra pas être utilisée puisqu'elle sera très hétérogène génétiquement et qu'il y aura ségrégation de tous les couples d'allèles qui différenciaient les lignées pures parentales. Chaque année, il faut donc, à partir des lignées pures, reconstituer les hybrides.

Parmi les animaux d'élevage, l'hybridation est aussi très largement pratiquée pour obtenir des animaux qui correspondent mieux aux exigences de l'industrialisation. C'est ainsi que le croisement entre la race de bovins blancs « Shorthorn » et la race de bovins noirs « Angers » donne naissance à l'hybride gris « Roani », qui se caractérise par une vigueur, une croissance et une qualité de viande supérieures à celles de chacun des deux parents. Les « Roani », hautement hétérozygotes, ne peuvent pas être utilisés pour la reproduction.

Le polymorphisme

Comme nous venons de le voir pour la sélection artificielle, la sélection ne peut avoir une prise que si la population est génétiquement hétérogène. Cette hétérogénéité existe dans toutes les populations ayant une reproduction sexuée. C'est ainsi que même l'espèce humaine est polymorphe pour beaucoup de caractères. Un aspect de ce polymorphisme est visible au niveau des groupes sanguins ABO, MN et Rh, gouvernés respectivement par un seul gène. Les fréquences relatives de chaque allèle au niveau de chaque gène varient d'une population à l'autre.

Par exemple, sur la seule base de la présence d'une substance à la surface des globules rouges (agglutinogène A et B) et d'une autre dans le sérum (agglutinine anti-A et anti-B), on peut subdiviser l'espèce humaine en quatre classes distinctes : la classe A, qui possède l'agglutinogène A et l'agglutinine anti-B ; la classe B, possédant l'agglutinogène B et l'agglutinine anti-A ; la classe AB, qui possède les deux agglutinogènes A et B mais aucune agglutinine ; et enfin la classe O, ne possédant pas d'agglutinogènes mais les deux agglutinines anti-A et anti-B.

Les agglutinines anti-A et anti-B sont capables d'agglutiner les globules rouges portant respectivement les agglutinogènes A et B. C'est pour cela qu'il est important, au cours d'une transfusion sanguine, que le sang du donneur ne soit pas agglutiné par le sérum du sang du receveur : les agglutinines du sang du donneur étant diluées rapidement sont peu efficaces pour agglutiner les globules du sang du receveur. Le tableau ci-dessous résume les possibilités qu'a chaque type de groupe sanguin d'être *donneur* ou *receveur*.

Donneur →	Receveur possible			
	O	A	B	AB
O	oui	oui	oui	oui
A	non	oui	non	oui
B	non	non	oui	oui
AB	non	non	non	oui

Le groupe O est donc, par l'absence d'agglutinogènes sur les globules rouges, un « donneur universel », aucun sang n'étant capable d'en agglutiner les globules rouges. Par contre, étant capable d'agglutiner lui-même aussi bien les globules rouges portant l'agglutinogène A que les globules portant l'agglutinogène B, il ne peut recevoir que du sang provenant d'un donneur O. Le groupe AB, du fait qu'il ne contient pas d'agglutinine, n'est capable d'agglutiner aucun sang : il est « receveur universel », et ne peut par contre donner son sang qu'aux représentants du même groupe.

Le groupe sanguin ABO est déterminé par *un seul locus*, où il peut y avoir trois types d'allèles différents : *A*, *B* ou *O*. Les allèles *A* et *B* sont dominants par rapport à l'allèle *O* et sont co-dominants l'un par rapport à l'autre. Le tableau ci-dessous donne les génotypes possibles des individus ayant l'un ou l'autre des groupes sanguins.

Groupe sanguin	Génotype
O	*OO*
A	*AA* ou *AO*
B	*BB* ou *BO*
AB	*AB*

L'étude de la population humaine a permis d'établir que les fréquences des différents allèles varient d'un groupe ethnique à l'autre. Ces différences sont probablement dues aux effets de la *dérive génétique* dont nous parlerons un peu plus loin. Le tableau, en haut de colonne, donne quelques exemples des fréquences des divers allèles dans différentes populations humaines.

D'autres exemples du polymorphisme existant dans la population humaine nous sont fournis par les différentes couleurs de la peau, des cheveux et des yeux, les différentes formes des crânes, des nez, des oreilles, des mentons, etc.

Un exemple de polymorphisme plus biochimique qui pose un problème à tous les chirurgiens quand ils pratiquent des greffes est celui qui existe au niveau des gènes d'histo-incompatibilités. Le nombre d'allèles existant au niveau de ces différents gènes dans la population humaine est si grand que chaque individu est presque unique ; on s'est rendu compte au cours des dernières tentatives de greffe du cœur de la difficulté qu'avaient les chirurgiens pour trouver des donneurs ayant le minimum d'incompatibilités avec le receveur.

▼ *Tableau montrant les diverses réactions entre les différents types de groupes sanguins O, A, B et AB, et les anticorps « anti-A » et « anti-B ».*

Receveurs: types ou groupes	antigènes dans les globules rouges	anticorps présents dans le sérum	DONNEURS réactions entre sérum et globules rouges selon les différents types ou groupes: O	A	B	AB
O	O	Anti-A Anti-B				
A	A	Anti-B				
B	B	Anti-A				
AB	AB					

I.G.D.A.



N. Myers

▲ *La génétique des populations considère comme* **individus les organismes issus d'une reproduction sexuée** *et qui sont par conséquent* **génétiquement distincts;** *ici, une population de flamants roses* **(Phoenicopterus ruber).**

Génétique des populations

Pour comprendre le métabolisme cellulaire, le biochimiste étudie des populations de molécules et les interactions qui se produisent entre ces molécules. Pour saisir le fonctionnement d'un organisme, le physiologiste étudie des populations de cellules constituantes des organes et les interactions intercellulaires et interorganiques. Au plus haut niveau de l'organisation biologique, le biologiste des populations étudie des populations d'organismes, les relations des individus à l'intérieur de ces populations et les interactions entre populations différentes. Le terme *population* sera utilisé dans cette étude pour désigner des groupes d'organismes individuels.

La notion d'*organisme individuel* n'est pas aussi évidente qu'il y paraît de prime abord; dans le cas des plantes se reproduisant d'une manière végétative, le descendant resté attaché au parent présente toutes les caractéristiques d'un organisme mais ne peut être considéré comme un individu isolé. La notion s'applique également mal aux symbiotes comme les Lichens, qui, en un même individu, associent deux organismes : une Algue et un Champignon. Enfin, une colonie d'Insectes sociaux présente des analogies avec un organisme, du fait de la différenciation qui existe dans les rôles joués par les divers individus. D'un point de vue opérationnel, nous utiliserons une définition génétique de l'individu. La génétique des populations considère comme *individus les organismes issus d'une reproduction sexuée* et qui sont par conséquent *génétiquement distincts*.

On appelle *population mendélienne* une population d'individus se reproduisant de manière sexuée. La génétique des populations étudie le devenir des gènes portés par l'ensemble des individus d'une population mendélienne au cours des générations successives. Contrairement à la génétique classique, qui s'intéresse à la descendance de deux individus, elle doit tenir compte des propriétés spécifiques de la population, en particulier de la distribution spatiale des individus : cette dernière sera fonction de données géographiques (les accidents du terrain, les limites des océans, etc.) et de données écologiques (les relations avec d'autres espèces...) La connaissance des facteurs qui gouvernent la rencontre des gamètes est de première importance pour le généticien, l'ensemble de ces facteurs constituant ce qu'on appelle la *structure de la population*. Le comportement pourra modifier la structure de la population, particulièrement chez les animaux supérieurs; le généticien devra donc tenir compte également de données éthologiques.

Une connaissance des idées de base de la génétique des populations est absolument essentielle pour comprendre comment passe, de génération en génération, la masse d'informations génétiques que possède une population. Nous envisageons donc les aspects théoriques de la génétique des populations en ne considérant que des situations extrêmement simples, que nous illustrerons à l'aide de quelques exemples pris chez les populations naturelles.

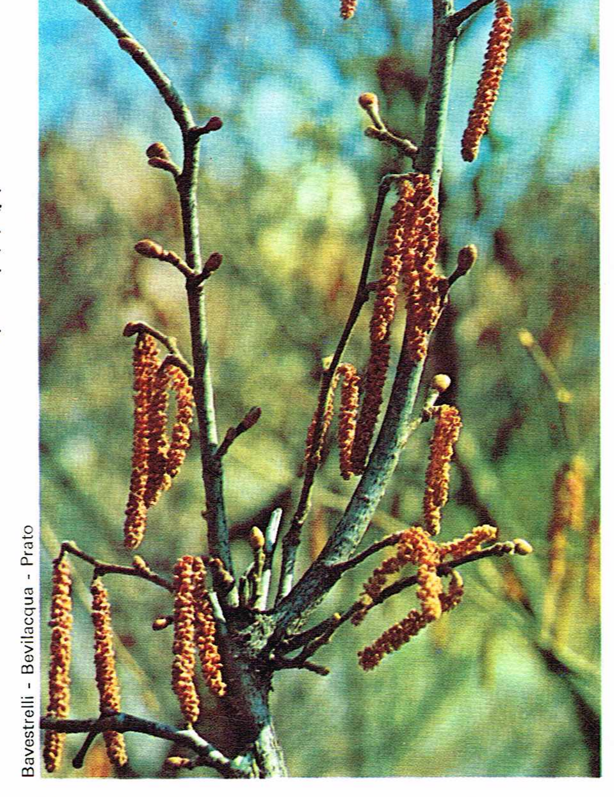
La panmixie

Définition

Une population est dite *panmictique* si la rencontre des gamètes s'y produit au hasard. Cette situation, qui est la plus simple que l'on puisse envisager, se trouve de fait réalisée dans un grand nombre de cas : par exemple, des plantes, qui libèrent leurs grains de pollen dans l'air, ont une fécondation assurée par le vent; des animaux marins, comme les huîtres, libèrent leurs gamètes dans l'eau de mer. Cette situation est également réalisée lorsque chaque individu présente une probabilité égale de s'accoupler avec les différents individus du sexe opposé, à l'intérieur de la population. La probabilité de formation de chaque type de couple est alors égale au produit de la fréquence des individus mâles et femelles du type considéré.

Envisageons l'hypothèse d'une population composée d'animaux pouvant présenter deux couleurs différentes du pelage : blanc ou noir. Supposons que sur 100 mâles prélevés de cette population on en dénombre en moyenne

▶ ***Une population est dite panmictique si la rencontre des gamètes s'y produit au hasard; cette situation est réalisée, notamment, chez le noisetier, dont la diffusion du pollen est typiquement anémophile.***



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

60 à poils noirs et 40 à poils blancs; admettons encore que sur 100 femelles, on en dénombre 70 à poils noirs et 30 à poils blancs. On peut, dans une hypothèse panmictique, calculer les fréquences de couples de types différents qui doivent théoriquement se former :

Croisement ♂ ♀	Produit	Fréquences théoriques
blanc x blanc	0,40 x 0,30	0,12
noir x noir	0,60 x 0,70	0,42
blanc x noir	0,40 x 0,70	0,28
noir x blanc	0,60 x 0,30	0,18

Richard Colin

Si la comparaison entre les effectifs théoriques et les effectifs réellement observés dans un échantillon d'animaux montre d'éventuelles déviations par rapport à l'hypothèse de panmixie, cela prouve qu'il n'y a pas panmixie, au moins en ce qui concerne la couleur du pelage.

Pool et fréquence géniques

Toute l'information génétique que possède une population, c'est-à-dire l'ensemble des gènes portés par les individus qui la composent, peut être désignée par le terme de *pool génique*. Si l'on pouvait décrire complètement le pool génique d'une population, on connaîtrait pour chaque gène non seulement les différents types d'allèles rencontrés dans cette population, mais également les fréquences respectives de ces différents allèles dans la population.

Envisageons le cas d'une population où un caractère est déterminé par un couple d'allèles *A/a* situé sur un autosome. Cette population est constituée de N individus diploïdes, parmi lesquels D sont homozygotes pour l'un des allèles *(AA)*, H sont hétérozygotes *(Aa)* et R homozygotes pour l'autre allèle *(aa)*. On peut écrire que $D + H + R = N$: il existe donc trois types d'individus. Dans la population totale, qui est diploïde, il y a donc $2 \times N$ gènes déterminant le caractère considéré. Puisque chaque individu *AA* possède deux allèles *A* et que chaque individu *Aa* possède un allèle *A*, le nombre total des allèles *A* dans la population est : $2 \times D + 1 \times H$. La fréquence p des allèles *A* dans la population est donc : $p = \dfrac{2 \times D + 1 \times H}{2 \times N}$; c'est la *fréquence génique de* l'allèle *A*. La fréquence génique de l'allèle *a* sera donc égale à $1 - p = q$, puisqu'il n'y a que 2 allèles déterminant le caractère considéré.

Application

Les caractères antigéniques portés par les globules rouges du sang et identifiés au moyen de tests utilisant la réaction anticorps-antigène sont à hérédité simple chez les animaux et chez l'homme.

Lorsque des globules rouges humains sont injectés dans le lapin, celui-ci répond en produisant des anticorps, formant un antisérum, qui réagit contre ces globules rouges et les agglutine, même lorsqu'il est fortement dilué. Un tel sérum réagit à peu près également sur tous les globules rouges humains, quel que soit l'individu qui les a produits. Cependant, par une technique d'adsorption, le sérum peut être fractionné de telle sorte qu'il distingue des différences individuelles dans le sang humain. Ainsi, en mélangeant le sérum avec les globules rouges d'un homme puis en centrifugeant ces globules, on élimine tous les anticorps qui réagissent avec cet individu (ils sont adsorbés par les globules). Il restera dans le surnageant des anticorps qui, à leur tour, pourront réagir avec d'autres individus.

A côté des antigènes caractéristiques des groupes A-B-O, deux antigènes (appelés M et N) sont présents à la surface des globules rouges. En mélangeant l'antisérum de lapin avec des globules qui ne portent que l'antigène M puis en centrifugeant les cellules, on récupère dans le surnageant des anticorps anti-N spécifiques. Et, de la même façon, des anticorps anti-M peuvent être préparés à partir de globules ne portant que l'antigène N. Ce deux anticorps peuvent théoriquement identifier dans les populations humaines quatre situations différentes : les globules sans antigène, les globules portant M, les globules portant N, ou ceux qui portent les deux. Il se trouve que tous les sangs humains actuellement répertoriés possèdent au moins l'un des deux antigènes.

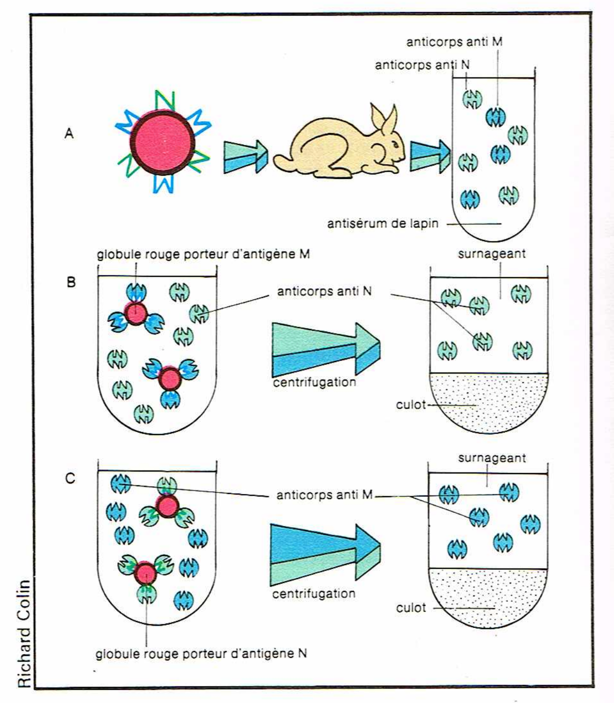
La caractéristique antigénique vis-à-vis des antigènes M, N est déterminée par un couple autosomique de gènes allèles *(A/a)*. Les individus qui ne possèdent que l'antigène M sont homozygotes *AA;* les individus qui ne possèdent que l'antigène N sont homozygotes *aa;* les individus qui possèdent simultanément les deux sont hétérozygotes *Aa*.

On peut calculer la fréquence génique de l'allèle *A* dans une population.

Par exemple, on dispose d'une statistique de la population de Brooklyn (États-Unis) portant sur 1 849 individus; cette statistique indique que 541 individus portent seulement l'antigène M, 903 les antigènes M et N, et que 405 ne portent que l'antigène N.

Appliquons la formule $p = \dfrac{2 \times D + 1 \times H}{2 \times N}$.

$D = 541$; $H = 903$ et $N = 1\,849$. D'où, la fréquence



▶ ***Technique d'adsorption permettant de montrer que le sérum de lapin peut être fractionné de telle sorte qu'il distingue des différences individuelles dans le sang humain : A, fabrication de l'anti-sérum de lapin; B, préparation des anticorps anti-N; C, préparation d'anticorps anti-M.***

génique de l'allèle A sera : $p = \frac{1\,082 + 903}{3\,698} = 0{,}537$.

La fréquence génique de l'allèle a sera égale à $q = 1 - p = 0{,}463$.

Loi de Hardy-Weinberg

Considérons une population panmictique où existent deux allèles *A et a* déterminant un caractère donné avec des fréquences géniques respectives p et q égales dans les deux sexes. Les diverses combinaisons des divers types de gamètes mâles et femelles sont représentées dans le tableau ci-dessous.

gamète femelle \ gamète mâle	A (p)	a (q)
A (p)	AA (p^2)	Aa (pq)
a (q)	aA (pq)	aa (q^2)

Richard Colin

Puisque chacun des gamètes ne porte qu'un seul allèle, les fréquences dans la population des deux types de gamètes (celui qui porte *A* et celui qui porte *a*) sont égales aux fréquences géniques. Comme les gamètes se fécondent au hasard (hypothèse panmictique), la probabilité de chaque cas est égale au produit des probabilités de chacun des deux types de gamètes qui lui correspond. Les probabilités des trois génotypes sont donc : $AA = p^2$, $Aa = 2\,pq$ et $aa = q^2$. La somme de ces trois probabilités est évidemment égale à 1 :

$$p^2 + 2\,pq + q^2 = (p + q)^2 = 1.$$

On peut calculer la fréquence génique de l'allèle *A* à la génération suivante : elle est égale à

$$p^2 + 1/2\,(2\,pq) = p\,(p + q) = p.$$

Les fréquences géniques ne changent donc pas d'une génération à la suivante ; la population est en *condition d'équilibre*. Cet équilibre est traduit par la *loi de Hardy-Weinberg*, qui peut être exprimée de la façon suivante : si des formes alléliques d'un gène autosomal sont présentes dans une population panmictique d'effectif important, en l'absence de mutation, de sélection ou de migration différentielle, les fréquences géniques de ces allèles (p_1, p_2, p_3,..., p_n) restent constantes dans les générations successives.

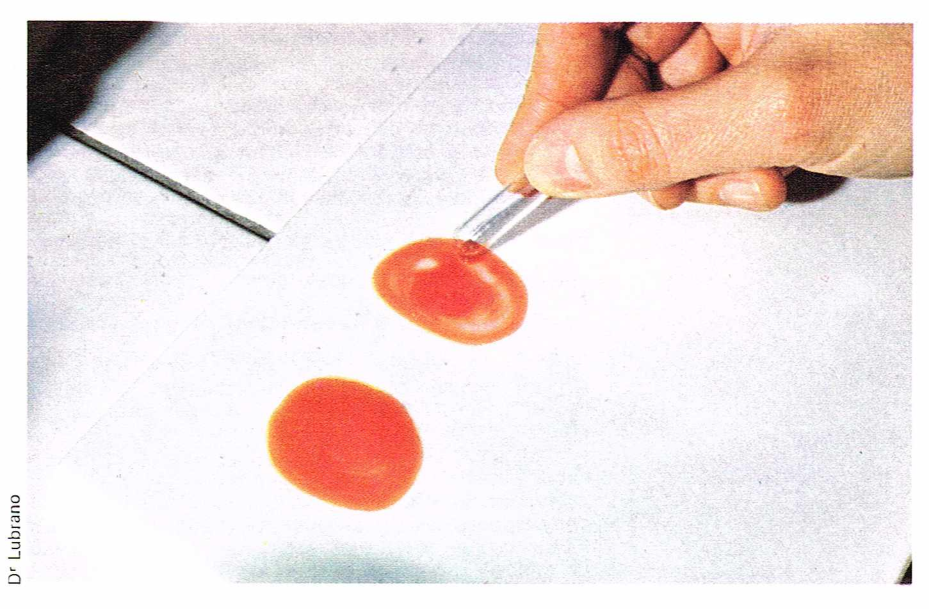
Les *fréquences des différents génotypes* à chaque génération chez un organisme diploïde sont données par les termes du développement de $(p_1 + p_2 + p_3 + ... + p_n)^2$.

Application.

Nous avons calculé précédemment la fréquence génique de l'allèle *A* responsable de la présence de l'antigène M dans la population de la ville de Brooklyn. Cette fréquence est une estimation de la probabilité pour le gène étudié d'être sous la forme allélique *A* ; c'est également la probabilité pour un gamète particulier de porter l'allèle *A*. La loi de Hardy-Weinberg indique que si la population est panmictique, les probabilités des trois génotypes sont : $AA = p^2 = (0{,}537)^2$; $Aa = 2\,pq = 2 \times 0{,}537 \times 0{,}463$; et $aa = q^2 = (0{,}463)^2$.

Dans cette hypothèse, on s'attend à trouver en moyenne parmi 1 849 individus pris au hasard dans la ville de Brooklyn : $N \times p^2 = 536$ *AA*, $N \times 2\,pq = 925$ *Aa*, et $N \times q^2 = 388$ *aa*. Les chiffres observés (respectivement : 541, 903 et 405) sont suffisamment proches des valeurs théoriques pour que l'on puisse considérer que les habitants de Brooklyn constituent une population panmictique en ce qui concerne le caractère antigénique M/N. Un test statistique approprié le montrerait.

Le fait que dans une population panmictique il n'y ait pas de changement, au cours des générations successives, des fréquences géniques constitue ce que l'on appelle une *inertie génétique*. A moins que n'intervienne, comme nous allons le voir maintenant, une diminution importante dans l'importance numérique de la population ou un changement dans les mécanismes de choix des partenaires sexuels, à moins que ne se produisent des mutations, des migrations différentielles, à moins enfin que ne joue la sélection, l'équilibre traduit par la loi de Hardy-Weinberg ne sera pas modifié. C'est la destruction de cet équilibre qui entraîne l'*évolution* de la population. En d'autres termes, la condition d'équilibre peut constituer un point de repère dans l'histoire d'une population, un point d'évolution zéro.



Dr Lubrano



Dr Lubrano

▲ ***En haut, les caractères antigéniques portés par les globules rouges du sang sont identifiés au moyen de tests utilisant la réaction anticorps-antigène ; ici, l'étalement d'une goutte de sang et sa mise en présence avec un sérum témoin. En bas, mise en évidence des 3 principaux groupes sanguins ; de haut en bas, A Rh⁺, B Rh⁻, O Rh⁻.***

Rôle de l'importance numérique de la population

Nous avons étudié jusqu'ici la relation d'équilibre traduite par la loi de Hardy-Weinberg sur des populations dont le nombre d'individus était élevé. Cela permettait de négliger les problèmes d'échantillonnage que pose le tirage au sort des gamètes dans la population. Il en est tout autrement lorsque l'importance numérique de la population est faible.

La dérive génétique

Soit un couple d'allèles *A* et *a* dont les fréquences parmi les adultes qui composent une génération sont :

$$p \text{ et } q = 1 - p.$$

Les gamètes utiles, ceux qui constituent la génération suivante, sont tirés au hasard parmi les gamètes produits en nombre infini par les adultes de la génération précédente.

Si l'effectif de la population des adultes est constant au cours des générations et égal à N, le tirage s'effectuera parmi $2 \times N$ gamètes. Dans l'échantillon ainsi extrait, la fréquence p_1 de l'allèle *A* ne sera pas nécessairement égale à p (fréquence, dans la population parentale, de ce

même allèle), puisque chaque tirage d'un gamète peut entraîner l'apparition soit d'un allèle *A*, soit d'un allèle *a*, et cela au hasard. Néanmoins, elle ne sera pas très différente de la fréquence p, puisque rien ne favorise particulièrement le choix de l'un des deux allèles *A* ou *a* : en effet, les gamètes se fécondent au hasard en ce qui concerne le caractère déterminé par ces allèles.

La théorie des probabilités nous enseigne que p_1 n'est pas éloigné de p de plus de $2 \times \sqrt{\frac{p\,(1-p)}{2 \times N}}$. On peut, en effet, parier que p_1 sera compris dans l'intervalle $\left[p - 2 \times \sqrt{\frac{p\,(1-p)}{2 \times N}}\,;\, p + 2 \times \sqrt{\frac{p\,(1-p)}{2 \times N}}\right]$; cet intervalle est appelé pour cette raison « intervalle de pari ». On voit intervenir dans la formule précédente (qui mesure l'écart maximal entre p et p_1), au dénominateur, le nombre d'individus N ; cela signifie que plus l'effectif de la population est grand, plus l'écart entre p et p_1 sera faible, autrement dit, plus p_1 sera proche de p.

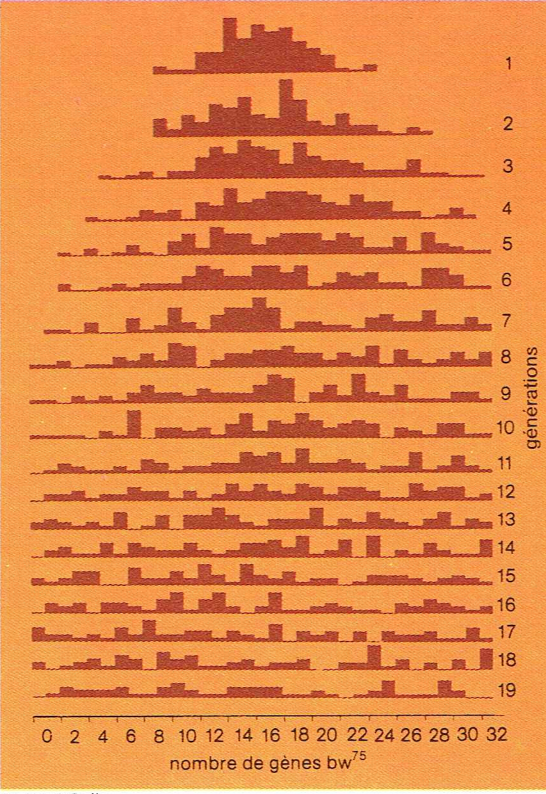
Prenons un exemple numérique : soit une population dans laquelle la fréquence de l'allèle *A* est égale à la fréquence de l'allèle *a* et, par conséquent, égale à 0,5. Le tableau ci-dessous indique, en fonction du nombre d'individus qui constituent cette population, les valeurs de la quantité $p\,\frac{(1-p)}{2\,N}$.

Effectif N	*Variance* $\frac{p\,(1-p)}{2\,N}$	*Intervalle de pari de* p_1
50	$25 \cdot 10^{-4}$	[0,400 ; 0,600]
5 000	$25 \cdot 10^{-6}$	[0,490 ; 0,510]
500 000	$25 \cdot 10^{-8}$	[0,499 ; 0,501]

Connaissant ces valeurs, on peut calculer l'*intervalle de pari de* p_1. Les valeurs de l'intervalle de pari sont reportées dans le tableau ci-dessus en fonction de l'effectif de la population.

Il apparaît que cet intervalle est d'autant plus grand que l'effectif est faible. Autrement dit, si l'effectif est faible, la fréquence de l'allèle *A* dans l'échantillon des gamètes peut, fortuitement, s'éloigner très sensiblement de sa valeur dans la population parentale. Ce qui est important, c'est que *cette variation est acquise,* puisque c'est la fréquence p_1 qui sera la probabilité du gène *A* dans la population suivante. Par conséquent, nous nous trouvons en présence d'une *réaction aléatoire en chaîne,* due à une suite de tirages au sort s'effectuant au cours du passage entre deux générations. Cette fluctuation, due au hasard, de la fréquence de l'allèle *A* au cours des générations successives a reçu le nom de *dérive génétique.*

Des expériences de dérive génétique ont été effectuées en laboratoire. Des populations de *Drosophila melanogaster,* constituées chacune de façon constante par 16 individus, ont été suivies au cours de 19 générations. La fréquence génique de deux allèles bw^{75} et *bw,* initialement égale à 0,5, a été mesurée dans chaque population et à chaque génération. Le gène étudié détermine la couleur des yeux. La distribution des fréquences géniques est reportée dans la figure ci-dessous.



Richard Colin



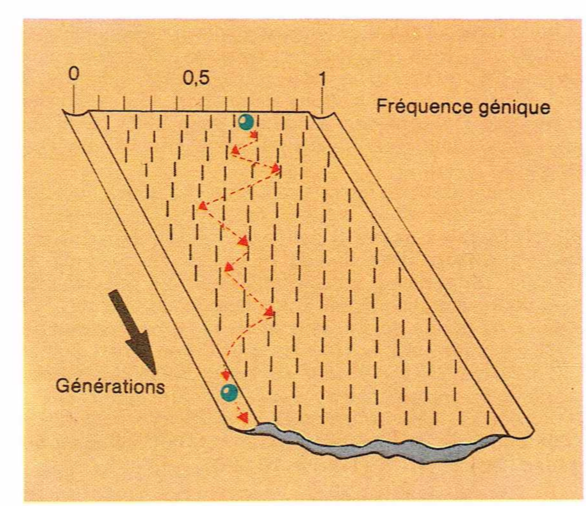
▼ *L'effectif des adultes des deux sexes peut être très différent chez certains groupes polygames tels que les bovins sauvages ; ici, un troupeau de bisons américains* **(Bison bison).**

C. E. Ostman - J. R. Simon

La hauteur de chaque colonne montre le nombre de populations ayant la fréquence génique dont la valeur est donnée sur l'axe des abscisses. La fréquence génique de chacun des deux allèles, égale dans la population initiale à 0,5, a dérivé au cours des 19 générations de façon constante, à tel point qu'à la 19e génération elle prend n'importe quelle valeur, sans préférence particulière, sans « souvenir » de la valeur initiale.

La fixation d'un allèle comme conséquence de la dérive génétique

La conséquence possible de la dérive génétique dans les populations d'effectif limité est représentée schématiquement dans la figure ci-dessous.



Richard Colin

La fréquence génique est représentée par une bille qui descend une table en pente. A chaque génération, cette bille heurte un obstacle, et ricoche d'obstacle en obstacle tant qu'elle reste sur la table; ces obstacles sont disposés perpendiculairement à la pente sur une ligne qui représente la fréquence génique. Chaque heurt avec un obstacle représente un tirage au sort. Si la bille sort de la table (fréquence génique égale à 0 ou à 1), elle suit alors une gouttière et ne peut revenir sur la table; l'un des allèles a alors *disparu* de la population, et l'autre est fixé irréversiblement. Sewal Wright a démontré que, dans ces conditions, le *taux de fixation* à chaque génération est constant et égal à 1/2 N.

Cette tendance constante à la fixation irréversible d'un allèle peut être, dans les populations d'effectif limité, un facteur important d'évolution.

La notion d'effectif efficace

Une population idéale est une population de taille constante, dans laquelle les deux sexes sont représentés de façon égale et se croisent au hasard. En fait de telles populations n'existent pas dans la nature. En effet, comme l'a remarqué Wright, le tirage au sort qui décide si un descendant parviendra ou non à l'âge adulte et comptera dans la génération suivante n'est pas indépendant pour les descendants d'un même individu. Les descendants nés d'une même reproduction subissent très souvent le même sort favorable ou défavorable. De plus, il peut exister plusieurs générations d'effectif différent au cours d'un même cycle annuel; c'est, par exemple, le cas d'un certain nombre d'espèces d'Insectes dont seul un petit nombre d'adultes passe l'hiver. Enfin, l'effectif des adultes des deux sexes peut être très différent, par exemple chez certains groupes polygames, tels les bovins sauvages.

Dans tous ces cas, l'effectif des individus qui participent réellement à la génération suivante peut être considérablement réduit. Cet *effectif efficace* est bien inférieur à l'effectif d'une population idéale. La limitation de l'effectif des reproducteurs peut entrainer la fixation accidentelle d'allèles par dérive génétique et par conséquent appauvrir le pool génique. Cette limitation favorise, d'autre part, les croisements consanguins qui conduisent à l'homozygotie, c'est-à-dire à l'élimination des hétérozygotes.

Influence du choix entre les conjoints sur la structure génétique des populations

Pour les espèces où se forment des couples, la panmixie est une situation limite qui n'est que rarement réalisée. Un organisme choisit habituellement son partenaire sexuel sur des critères plus ou moins bien définis selon les espèces, mais rarement comme s'il s'agissait d'un tirage au hasard rigoureux.

Quels sont les facteurs qui, dans la nature, peuvent diriger le choix des conjoints? On en distingue deux sortes.

La recherche d'un semblable ou d'un dissemblable

Dans le cas de la recherche d'un semblable on parle d'*homogamie;* et dans le cas contraire, d'*homogamie inverse*. Ainsi, on a mis en évidence chez l'homme une corrélation des caractères physiques entre conjoints. L'homogamie a pour conséquence l'élimination des hétérozygotes correspondant aux caractères déterminants dans le choix des conjoints.

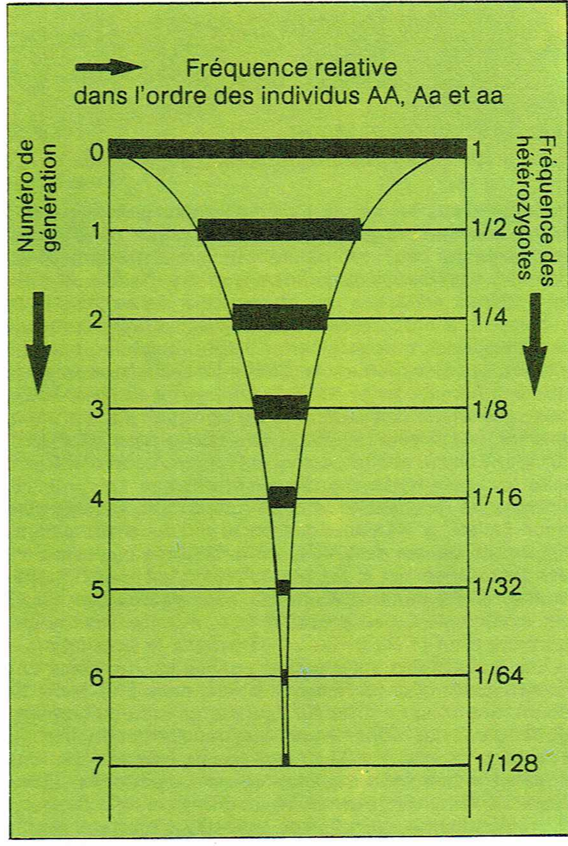
La recherche d'un conjoint apparenté

On parle de consanguinité; celle-ci influence très fortement la structure des populations. Envisageons deux systèmes de croisements consanguins.

L'autofécondation

Dans l'autofécondation, la fécondation a lieu entre gamètes d'un même individu, ce qui a pour effet d'augmenter de génération en génération le nombre de gènes présents à l'état homozygote.

Imaginons le cas extrême d'une population constituée à l'origine d'individus diploïdes hétérozygotes pour tous les gènes. Dans ce cas, un individu contiendra les deux exemplaires de chaque gène sous deux formes alléliques différentes. Les deux gamètes qui fusionneront pour donner naissance à un individu de la génération suivante contiendront pour un gène donné une fois sur deux un exemplaire d'une même forme allélique et une fois sur deux un exemplaire d'une forme allélique différente. Les descendants de la première génération seront donc homozygotes pour la moitié des gènes en moyenne. Et la fréquence des hétérozygotes sera divisée par deux en moyenne à chaque génération. Elle tendra donc très rapidement vers zéro.



Richard Colin

◀ ***Dans l'autofécondation, la fréquence des hétérozygotes est divisée par deux à chaque génération.***



▶ ***Les espèces chez lesquelles* l'autofécondation est systématique *sont composées d'un assemblage de lignées parallèles homozygotes pour la totalité du patrimoine héréditaire; c'est le cas du* blé *notamment.***

Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

Les espèces chez lesquelles l'autofécondation est systématique sont donc composées d'un assemblage de lignées parallèles homozygotes pour la totalité du patrimoine héréditaire. C'est le cas du blé, ou des pois étudiés par Mendel. Chaque *variété* est une lignée homozygote. Si l'on croise deux variétés de blé et si l'on abandonne ensuite la descendance à l'autofécondation naturelle, on obtiendra des lignées nouvelles où les caractères, différents dans les deux lignées originelles, seront réassortis au hasard. Le sélectionneur pourra alors faire son choix.

Le mariage entre cousins germains

Si des croisements consanguins entre proches parents sont tabous dans les sociétés humaines, certains, au contraire, peuvent être favorisés par des causes sociales; c'est le cas des croisements entre cousins germains.

Si deux personnes, que nous appellerons François et Marie, ne sont pas apparentées, leurs enfants auront deux parents, quatre grands-parents et huit arrière-grands-parents différents. Par contre si François et Marie sont cousins germains leurs enfants auront seulement six arrière-grands-parents.

AGP_1 AGM_1 AGP_2 AGM_2 AGP_3 AGM_3

GP_1 GM_1 GP_2 GM_2

François Marie

Enfants de François et Marie

Richard Colin

▲ ***Schéma du pedigree d'un couple formé entre deux cousins germains (AGM, arrière-grand-mère; AGP, arrière-grand-père; GM, grand-mère, etc.).***

Considérons le cas où l'un des arrière-grands-parents communs, l'arrière-grand-père par exemple (AGP_2), est hétérozygote pour un gène dont un allèle *a* récessif détermine un caractère pathologique rare. Sa fille, la mère de François (GM_1), a une chance sur deux d'hériter de cet allèle *a*, et François une chance sur quatre (une chance sur deux pour que sa mère en hérite multipliée par une chance sur deux pour que, dans le cas où sa mère le possède, François en hérite). De même, la probabilité pour que Marie soit hétérozygote pour ce même allèle *a*, présent à l'origine chez l'arrière-grand-père AGP_2, est de 1/4. La probabilité pour que François et Marie soient tous les deux hétérozygotes est de $1/4 \times 1/4 = 1/16$. Puisque la probabilité d'avoir un enfant homozygote pour l'allèle *a* dans la descendance de deux parents hétérozygotes est de 1/4, la probabilité pour qu'ils aient un enfant taré est donc de $1/16 \times 1/4 = 1/64$. Par contre, si François et Marie ne sont pas apparentés, il est extrêmement peu probable que tous les deux soient porteurs d'un allèle *a* qui est rare dans la population.

Les croisements entre cousins germains, de même que les croisements entre frères et sœurs, mais à un moindre degré, ont donc un effet sur l'augmentation de l'homozygotie générale, dans la population. En particulier, ils augmentent très sensiblement la probabilité de faire apparaître des individus homozygotes pour les allèles récessifs, lesquels déterminent un grand nombre de maladies héréditaires. Ainsi, une statistique portant sur la fréquence des individus atteints d'albinisme dans la population européenne (1 individu sur 20 000) a montré que 15 % environ des albinos recensés étaient cousins germains. Ce pourcentage est très supérieur au pourcentage de cousins germains dans la population.

Les effets de la mutation sur les fréquences géniques dans les populations de grand effectif

Les *mutations* sont des changements dans l'information génétique. L'un des gènes, sous l'effet de la mutation, passe brutalement d'un état allélique à un autre état allélique. Les mutations affectent donc directement les fréquences géniques.

Il est indispensable de bien connaître la fréquence des mutations. Nous appellerons *taux de mutation* u la probabilité qu'un gène issu d'une lignée génique *A* soit devenu *a* au bout d'une génération de l'organisme considéré. On considérera donc comme unité de temps *une génération,* c'est-à-dire un cycle complet de l'organisme.

Une estimation du taux de mutation des gènes humains a pu être faite dans certains cas. Ainsi, le généticien danois Morch a trouvé 8 achondroplases parmi quelque 94 000 enfants dont ni l'un ni l'autre des parents ne l'étaient (le nanisme achondroplasique est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante). Ce résultat ne donne qu'une estimation très grossière du taux de la mutation : $4{,}2 \times 10^{-5}$ par génération; sur 1 million de gamètes émis par une personne normale, environ 42 gamètes ont un gène nouvellement muté pour l'achondroplasie. La majorité des *taux de mutations calculés* se situe entre 10^{-5} (1 mutation pour 100 000 gamètes par génération) et 10^{-4} (1 pour 10 000).

Estimation du taux de mutation des gènes de l'homme

	Nombre de mutations par million de gamètes
Allèles dominants	
Achondroplasie	42 à 70
Aniridie	5
Anomalie de Pelger	80
Epiloia	8 à 12
Rétinoblastome	14 à 23
Syndrome de Waardenburg	3,7
Allèles récessifs	
Achromatopsie	28
Albinisme	28
Amyotonie congénitale	20
Epidermolyse bulleuse	50
Idiotie amaurotique infantile	11
Microcéphalie	30
Microphtalmie et anophtalmie	10 à 20
Sauriasis	11
Gènes liés au sexe	
Hémophilie	32
Dystrophie musculaire pseudo-hypertrophique	100

Richard Colin

▶ ***Tableau représentatif des estimations du taux de mutations des gènes de l'homme (d'après Neel et Schull, 1954).***

Nous savons que la mutation qui produit le changement d'un allèle *A* vers un allèle *a* est en général réversible. Par conséquent si u représente le taux de mutation de $A \to a$, nous appellerons v le *taux de mutation réverse* de $a \to A$. Le taux de mutation réverse est habituellement plus faible que le taux de mutation initial. Nous pourrons symboliser cette relation de la façon suivante :

$$A \underset{v}{\overset{u}{\rightleftarrows}} a$$

Dans ces conditions, si p est la fréquence génique de l'allèle *A*, et 1 — p celle de l'allèle *a*, le changement apporté par la mutation dans la fréquence de *A* à la génération suivante sera :

— *l'apport d'allèles A :* cet apport est proportionnel, d'une part, au taux de mutation de $a \to A$, c'est-à-dire à v, et, d'autre part, à la fréquence de l'allèle *a* dans la population parentale, c'est-à-dire à 1 — p; il est donc proportionnel à v (1 — p);

— *la perte d'allèles A :* cette perte est proportionnelle, d'une part, au taux de mutation de $A \to a$, c'est-à-dire à u, et, d'autre part, à la fréquence de l'allèle *A* dans la population parentale, c'est-à-dire à p; cette perte est donc proportionnelle à up.

Un *équilibre* sera atteint lorsque l'apport contrebalancera la perte, c'est-à-dire lorsque v (1 — p) = up, équation d'où l'on tire *la valeur de la fréquence de l'allèle A à l'équilibre :* $p = \frac{v}{u + v}$.

Si on suppose, par exemple, que *A* mute vers *a* trois fois plus fréquemment que *a* ne mute vers *A*, u = 3 v. La valeur de la fréquence génique de l'allèle *a*, à l'équilibre, lorsque n'existent que les pressions de mutation, sera donc : $p = \frac{v}{u + v} = 1/4$.

La population sera par conséquent *stable* en ce qui concerne les fréquences géniques lorsque la fréquence de *A* atteindra la valeur 0,25 et la fréquence de *a* la valeur 0,75.

L'équilibre dans les fréquences relatives des allèles sous l'effet des pressions de mutations ne doit pas être confondu avec l'équilibre décrit par la loi de Hardy-Weinberg, qui concerne les fréquences des génotypes dans les générations successives, une fois les fréquences géniques bien définies.

La sélection, ou l'influence de l'environnement sur les fréquences géniques

La *sélection* peut se définir comme la reproduction différentielle des génotypes. Si une population est génétiquement hétérogène, la probabilité de succès de certains génotypes pourra être plus forte que celle d'autres génotypes. Il en découlera une accumulation de l'information correspondant à ces génotypes dans le pool génique de la population. Les fréquences géniques changeront dans les générations successives. L'équilibre traduit par la loi de Hardy-Weinberg sera modifié.

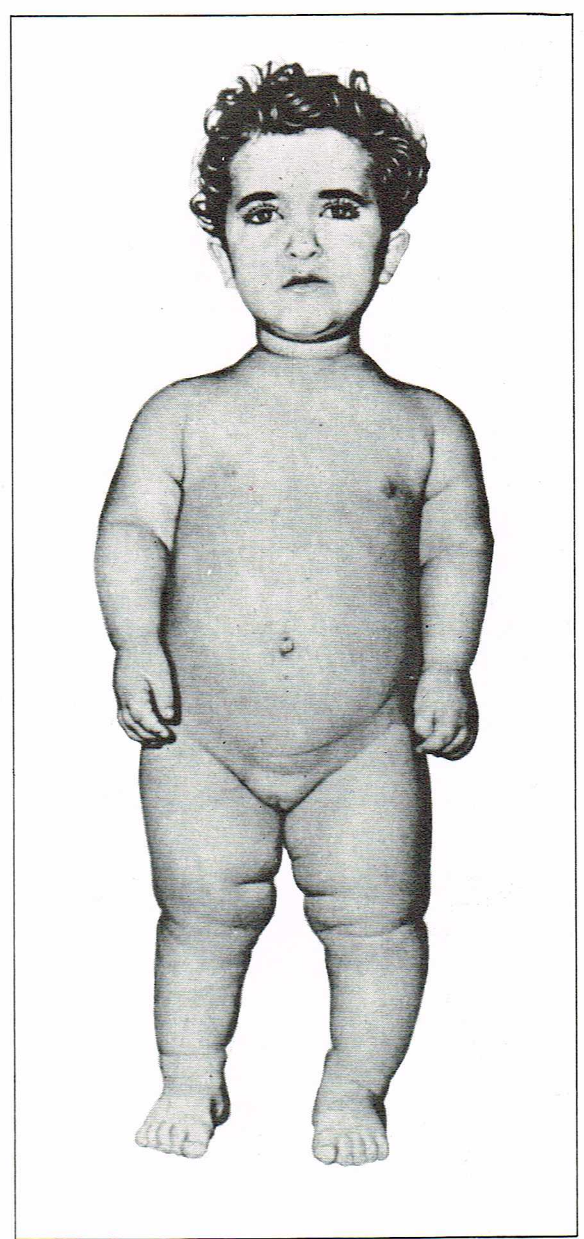
Nous allons étudier la sélection par rapport à l'évolution adaptative, et tout d'abord comme une protection contre les allèles désavantageux. La sélection artificielle par l'homme des espèces végétales et animales ne sera pas considérée ici.

Protection contre les allèles désavantageux

Un exemple de reproduction différentielle chez l'homme : le nanisme achondroplasique

C'est une maladie héréditaire à transmission dominante, déterminée par un couple d'allèles *A/a*. Appelons *A* l'allèle responsable de l'état pathologique; les individus *Aa* sont atteints de nanisme; on ignore le phénotype des individus *AA*.

Le Danois Morch a découvert que, si les enfants atteints d'achondroplasie sont victimes d'une mortalité assez élevée, les adultes jouissent d'une santé relativement normale. Or, les 108 nains adultes étudiés ont eu seulement 27 enfants alors que leurs 457 frères et sœurs normaux ont eu 582 enfants. Cette différence importante peut s'expliquer de la façon suivante : chez les achondroplases, la parturition exige fréquemment une césarienne (intervention qui n'a cessé d'être dangereuse que récemment); en outre, beaucoup d'achondroplases restent célibataires, sans doute parce que leur apparence est éloignée de l'idéal de beauté qui prévaut dans nos civilisations; enfin, certains de ces nains ne désirent pas avoir d'enfants susceptibles d'hériter de leur tare.



Archives I.G.D.A.

▲ ***Enfant atteint de nanisme achondroplasique; c'est une maladie déterminée par un couple d'allèles* A/a.**

Le nombre d'enfants par parent achondroplasique *(Aa)* est de 27/108 = 0,25, alors que par parent normal *(aa)*, il est de 582/457 = 1,27; cela signifie que les nains transmettent leurs gènes à la génération suivante avec une fréquence relative de 0,25/1,27 = 0,2 ,soit à raison de 20 % environ de l'efficacité des normaux. Cette efficacité est appelée *aptitude darwinienne*, ou *valeur adaptative*, ou encore *valeur sélective* d'un génotype et est représentée par le symbole W.

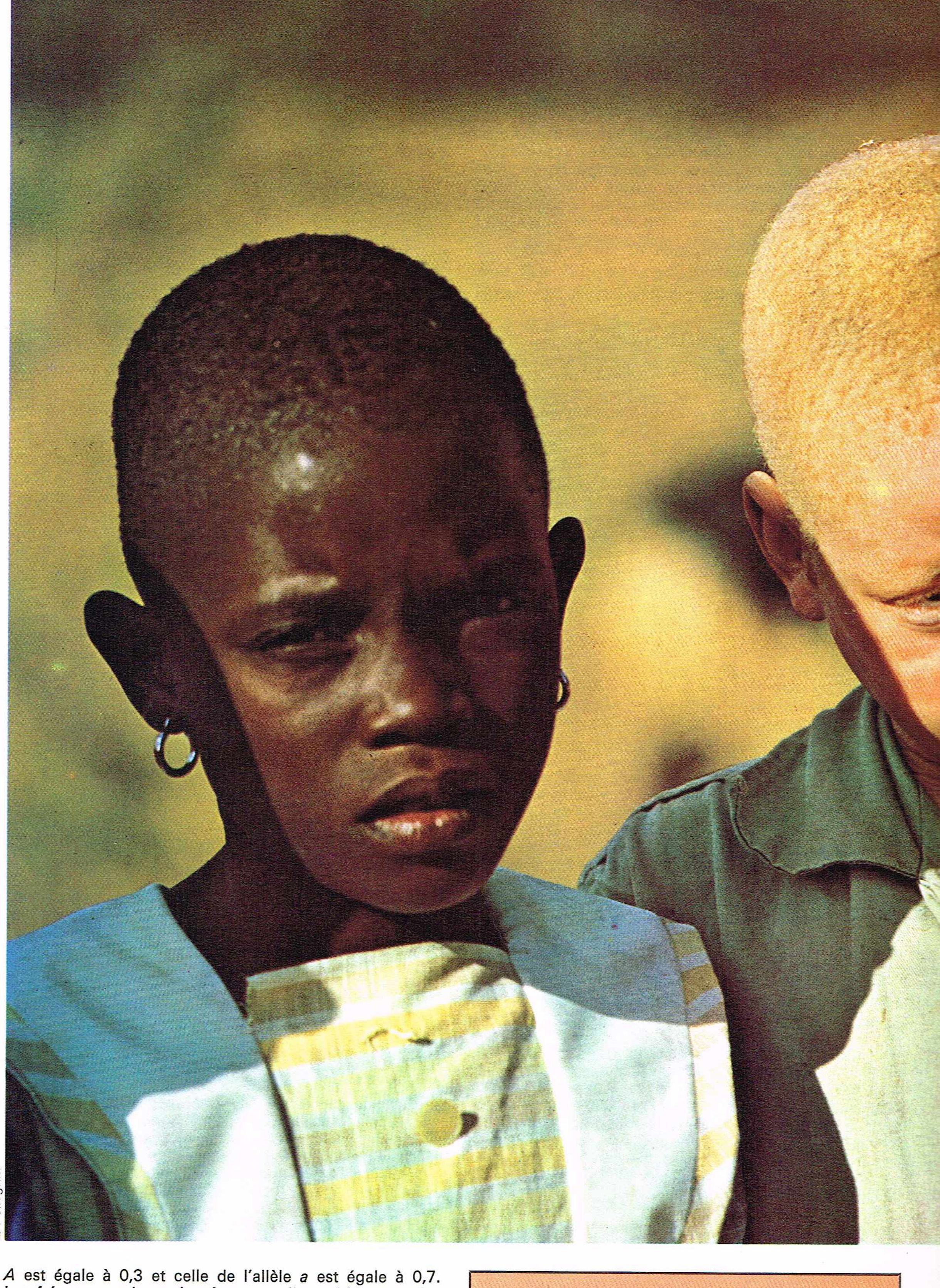
La valeur adaptative du génotype *aa* (individus normaux) étant par convention égale à 1, celle du génotype *Aa* sera égale à W = 0,2. L'état achondroplasique est donc combattu par une sélection naturelle

$$s = 1 - 0{,}2 = 0{,}8.$$

La valeur s est appelée *coefficient de sélection*.

Modification des fréquences géniques par la sélection

Pour illustrer comment la sélection peut affecter les fréquences géniques, nous prendrons un exemple extrême : supposons une population panmictique pour un caractère récessif déterminé par un couple d'allèles *A/a*. Dans une telle population la fréquence génique de l'allèle



▶ *Deux enfants bantous de Zambie orientale : l'un a conservé les caractères propres du groupe ethnique (peau et cheveux noirs), l'autre est porteur d'une tare récessive bénigne, l'*albinisme.

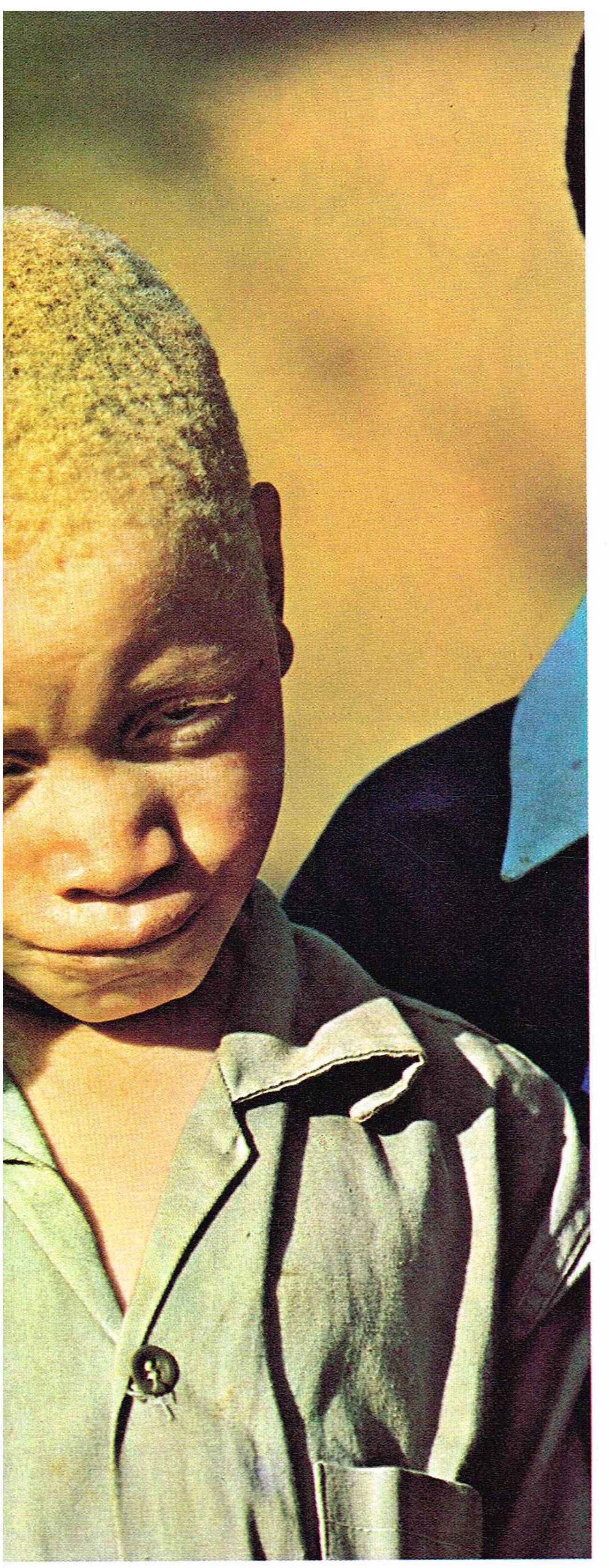
L. Pellegrini

A est égale à 0,3 et celle de l'allèle *a* est égale à 0,7. Les fréquences des trois génotypes (hypothèse panmictique) seront donc respectivement : *AA* = 0,09, *Aa* = 0,42 et *aa* = 0,49. Supposons que, du fait d'une modification brutale des conditions de vie extérieures, les individus de génotype *aa* ne puissent plus donner naissance à des descendants (s = 1). L'effectif efficace de la population sera alors réduit aux individus qui présentent soit le génotype *AA*, soit le génotype *Aa*. Ces génotypes représentent respectivement 18 % (0,09/0,09 + 0,42) et 82 % (0,42/0,09 + 0,42) de l'effectif efficace.

Si ces individus se croisent au hasard (ils présentent de fait le même phénotype), les fréquences des trois génotypes dans la descendance seront : *AA* = 0,35, *Aa* = 0,49, et *aa* = 0,17. La fréquence génique de l'allèle *a* sera égale à 0,17 + (1/2 × 0 49), soit à peu près 0,4. Elle aura diminué de 0,7 à 0,4. La sélection aura donc modifié la fréquence génique (tableau ci-contre).

Fréquence des génotypes dans les descendants d'une population où s'exerce une sélection qui empêche la reproduction des individus « *aa* » :

Croisement	*Fréquence*	*Fréquence des génotypes* AA	Aa	aa
AA × AA	$(0,18)^2 = 0,03$	0,03		
AA × Aa	(0,18) (0,82) = 0,15	0,075	0,075	
Aa × AA	(0,82) (0,18) = 0,15	0,075	0,075	
Aa × Aa	$(0,82)^2 = 0,67$	0,17	0,34	0,17
Total		0,35	0,49	0,17
Génération précédente		**0,09**	**0,42**	**0,49**



Si un allèle indésirable *a* présente une fréquence génique $q = 0,01$ dans la population humaine, de telle sorte que q^2 individus (0,000 1) expriment le caractère correspondant (1 sujet pour 10 000), il faudrait stériliser pendant 100 générations (à peu près 2 500 ans) les individus qui expriment le caractère pour réduire leur nombre à 1 pour 40 000. On comprend la relative inutilité d'un tel programme, surtout si l'on se souvient que de nouvelles mutations de $A \rightarrow a$ ne manqueraient pas de se produire.

Au contraire, la sélection qui opère contre un trait dominant est beaucoup plus efficace, puisque, toujours en l'absence des mutations, il suffirait évidemment d'une génération pour éliminer ce trait de la population s'il conférait à l'individu porteur l'incapacité de se reproduire.

Équilibre entre la mutation et la sélection

— *Cas de sélection contre la mutation désavantageuse dominante.*

Reprenons l'exemple du nanisme achondroplasique. Supposons que la population ne comprenne aucun achondroplase à l'origine. Comme il est hautement improbable que la mutation soit présente à la fois dans les deux gamètes maternel et paternel, lesquels sont à l'origine de l'individu, les nains seront tous des hétérozygotes *Aa*. A la génération suivante, la population contiendra deux catégories d'allèles *A* : ceux nouvellement apparus par mutation (qui constitueront dans le pool génique une fraction u) et ceux transmis par les parents achondroplasiques de la génération précédente; ceux-ci constitueront dans le pool génique une fraction 0,2 u (nous avons vu, en effet, que les achondroplases sont combattus par la sélection naturelle et que leur valeur adaptative W est égale à 0,2).

Au total, la fréquence génique p de l'allèle *A* sera égale à $u + 0,2\,u = 1,2\,u$. A la troisième génération, il y aura u nouveaux allèles *A* plus $0,2 \times 1,2\,u$ allèles transmis, soit au total : $p = 1,24\,u$. Et ainsi de suite... Les allèles *A* transmis constituant une fraction $0,2 \times p$, les allèles *A* éliminés par la sélection à chaque génération constituent une fraction $(1 - 0,2) \times p$. Un équilibre sera atteint lorsque la perte en allèles *A* due à la faible valeur adaptative de leur porteur sera exactement compensée par les mutations nouvelles, c'est-à-dire lorsqu'on aura $(1 - 0,2)\,p = u$. Or $u = 4,2 \times 10^{-5}$, la fréquence génique de l'allèle *A* sera donc, à l'équilibre :

$$p = \frac{u}{1 - 0,2} = \frac{4,2 \times 10^{-5}}{1 - 0,2} = 5,25 \times 10^{-5},$$

soit 525 allèles *A* pour 10 millions de gamètes.

La loi de Hardy-Weinberg nous permet de calculer les fréquences des différents génotypes dans la population en équilibre :

Phénotype	Normal	Achondroplase	Non viable?
Génotype	*aa*	*Aa*	*AA*
Fréquence	$q^2 = 0,999\,895$	$2\,pq = 0,000\,105$	$p^2 = 0,000\,000\,003$
Valeur adaptative	$W = 1$	$W = 0,2$	$W = 0?$

On observera donc 1 individu achondroplase pour environ 10 000 personnes, ce qui représente un peu plus du double du taux de mutation. Cela signifie que l'allèle *A* ne saurait s'accumuler dans la population de façon appréciable. Si la valeur adaptative du génotype *Aa* était proche de la normale, par exemple si W était égal à 0,9, la fréquence à l'équilibre de l'allèle *A* serait alors : $\overline{p} = \frac{u}{0,1} = 10\,u$, soit l'équivalent de seulement dix fois le taux de mutation. Par conséquent, les allèles dominants désavantageux ne s'accumulent pas dans le pool génique des populations. (Cela n'est pas le cas lorsque l'on considère les allèles récessifs désavantageux.)

— *Cas de sélection contre la mutation désavantageuse récessive.*

Si les individus porteurs de l'allèle désavantageux sous la forme hétérozygote *Aa* ne sont pas phénotypiquement différents des individus homozygotes normaux *AA*, la valeur adaptative de ces deux génotypes est donc la même et égale à 1. Par contre, les individus de génotype *aa* expriment la mutation et présentent une valeur adaptative plus faible et égale à $1 - s$ (s est le coefficient de sélection).

Un point intéressant à remarquer est que dans une population où les couples se forment au hasard, la proportion des individus hétérozygotes *Aa* pour un allèle récessif par rapport aux homozygotes pour ce même allèle augmente d'autant plus que la fréquence génique de cet allèle diminue (tableau ci-dessous).

Corrélation négative entre le rapport des génotypes *Aa/aa* et la fréquence génique de l'allèle *a* :

Fréquence de l'allèle a	*Fréquence des génotypes* AA	Aa	aa	*Rapport* Aa/aa
0,9	0,01	0,18	0,81	**0,22**
0,1	0,81	0,18	0,01	**18**
0,01	0,980 1	0,019 8	0,000 1	**198**

La fréquence génique q de l'allèle *a* atteint un équilibre dans la population lorsque les nouvelles mutations de *A* vers *a* sont contrebalancées par l'élimination dds allèles *a* par sélection. Puisque d'apès la loi de Hardy-Weinberg, la fréquence du génotype *aa* est égale à q^2, les allèles *a* éliminés constitueront donc dans le pool génique une fraction sq^2 : et, à l'équilibre, $u = sq^2$, d'où l'on tire l'équation : $\bar{q} = \sqrt{u/s}$.

A titre d'illustration, supposons qu'une tare récessive relativement bénigne, comme *l'albinisme* qui survient par mutation avec une fréquence $u = 28 \times 10^{-6}$, affaiblisse la valeur adaptative de ses victimes de 20 % seulement (s = 0,20) ; la fréquence génique de l'allèle responsable de l'albinisme sera à l'équilibre :

$$\bar{q} = \sqrt{\frac{u}{s}} = \sqrt{\frac{28 \times 10^{-6}}{0{,}2}} = 0{,}011\ 8.$$

Ce qui signifie qu'environ 1 gamète sur 100 sera possesseur de l'allèle responsable de l'albinisme, alors que seulement $\bar{q}^2 = 14/100\ 000$ individus de la population seront albinos.

La loi de Hardy-Weinberg nous permet de calculer les fréquences des différents génotypes dans la population en équilibre :

Phénotype	Normal	Normal	Albinos
Génotype	*AA*	*Aa*	*aa*
Fréquence	$p^2 = 0{,}976\ 5$	$2\ pq = 0{,}023\ 3$	$q^2 = 0{,}000\ 14$
Valeur adaptative	W = 1	W = 1	W = 0,8

L'allèle *a* s'accumule donc de façon sensible dans le pool génique, puisque les porteurs hétérozygotes où il se trouve à l'abri de la sélection naturelle sont environ 166 fois plus fréquents que les homozygotes qui donnent directement prise à l'influence du milieu.

Un cas intéressant est celui où la valeur adaptative de l'homozygote récessif est nulle (W = 0). C'est le cas des gènes létaux qui, à double dose, tuent leur porteur avant qu'il atteigne l'âge adulte; chez l'homme, il s'agit de maladies héréditaires fatales, comme *l'idiotie amaurotique infantile*. Le coefficient de sélection est alors égal à 1, et la fréquence génique de l'allèle *a* correspond à l'équilibre $\bar{q} = \sqrt{u}$. Le taux de mutation de l'idiotie amaurotique infantile a été estimé à 11×10^{-6}. La fréquence génique de *a* à l'équilibre sera q = 0,003 3. Cela signifie que 33 cellules reproductrices sur 10 000 auront cet allèle et que la fréquence génique sera 300 fois plus grande que le taux de mutation. La proportion des porteurs hétérozygotes sera :

$2 \times p \times q = 2 \times 0{,}996\ 7 \times 0{,}003\ 3 = 0{,}006\ 6$, soit 0,6 %.

L'accumulation des allèles récessifs reste donc très importante, même si les individus atteints sont éliminés en totalité par la sélection naturelle.

Contribution des mutations à la charge génétique des populations

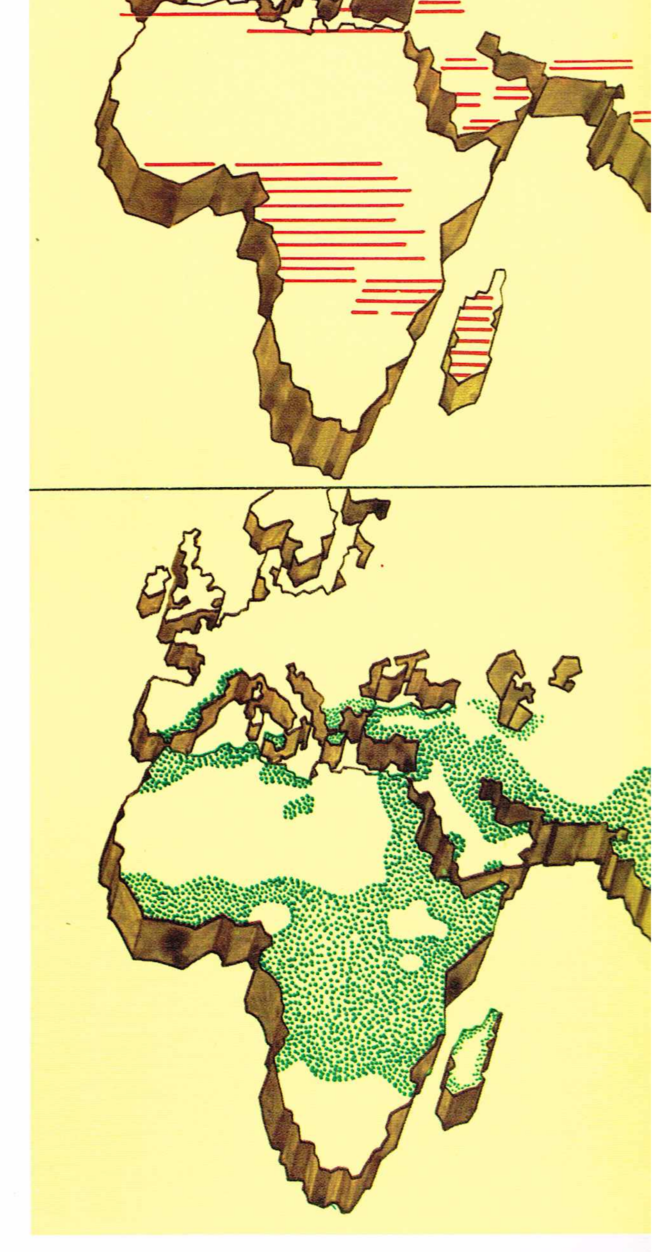
Si l'on admet comme taux de mutation moyen chez l'homme le chiffre de 10^{-5} par gène et par génération, cela signifie que 1 cellule reproductrice sur environ 100 000 possède, pour un gène donné, un nouvel allèle apparu par mutation. Or, le gamète humain ne compte pas moins de 10 000 gènes (10^4), et un œuf humain fécondé au moins 20 000. Par conséquent, à chaque génération, $2 \times 10^4 \times 10^{-5} = 20$ % des individus portent en eux au moins un gène nouvellement muté. La très grande majorité de ces nouveaux allèles est nuisible et est, par conséquent, contrecarrée par la sélection naturelle. Un équilibre s'établit entre la sélection et la mutation, et les allèles nuisibles persistent plus ou moins selon leur degré de nocivité ou selon qu'ils s'expriment à l'état homo- ou hétérozygote. On dit alors qu'ils contribuent à la *charge génétique,* ou *fardeau génétique* de la population.

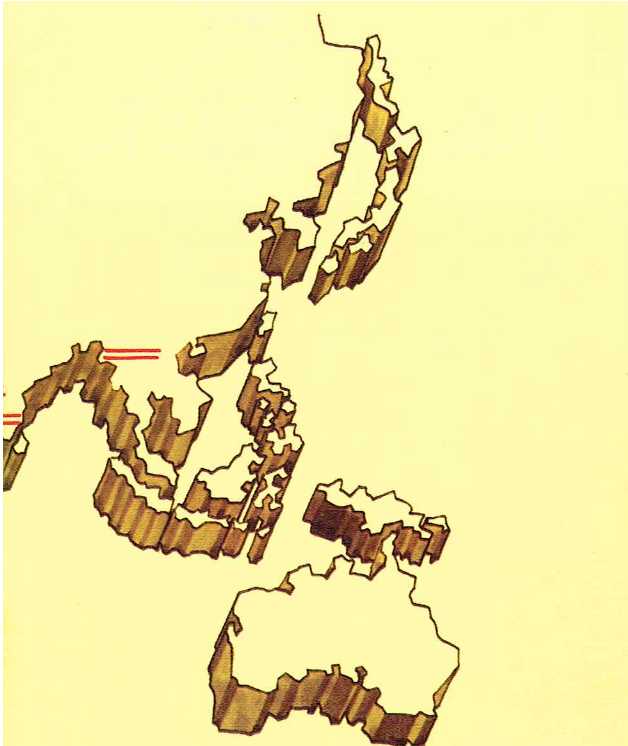
La charge génétique a pu être mise en évidence dans les populations naturelles de drosophiles. Le principe est d'obtenir, par des croisements appropriés d'individus qui constituent la population sauvage, des descendants homozygotes qui révéleront les effets des allèles à expression récessive portés par ces individus. Les résultats concernant les divers effets nuisibles déterminés par l'un des cinq chromosomes de *Drosophila pseudoobscura* (le chromosome II) sont reportés dans le tableau ci-dessous et exprimés en pourcentage des chromosomes II qui les produisent dans des populations de Californie et du Texas :

Létaux	17 %
Semi-létaux	7 %
Sub-vitaux	78 %
Stérilité femelle	11 %
Stérilité mâle	8 %

Les chromosomes létaux en double dose tuent leur porteur avant qu'il atteigne l'âge adulte. Les semi-létaux entraînent la mort de moins de 100 % mais de plus de 50 %, et les sub-vitaux de moins de 50 % des individus. En ce qui concerne la stérilité, seule la stérilité complète a été notée dans l'expérience, mais non une fertilité réduite.

Il existe quelques indications qui tendent à montrer que la charge génétique de l'espèce humaine est également importante. Ces indications sont fournies par l'observation de la descendance des croisements consanguins qui, comme nous l'avons montré précédemment, augmentent l'homozygotie dans la population. Des relevés soigneux ont été faits parmi les enfants d'apparentés.







Richard Colin

◀ *Distribution de l'anémie falciforme (barres rouges) et de la malaria (pointillé vert) en Eurasie et en Afrique. On remarquera que la fréquence élevée de l'allèle responsable de la maladie hémolytique est en corrélation étroite avec l'existence, à l'état endémique, de la fièvre paludéenne (d'après Motulsky).*

Une partie de ces décès n'est pas due directement à des causes génétiques mais, même dans ces cas, tout se passe comme si les enfants de père et mère apparentés résistaient moins bien aux facteurs extérieurs.

La sélection que nous venons d'étudier s'oppose donc à la propagation d'allèles désavantageux : elle protège les caractéristiques moyennes de la population; pour cette raison, elle est appelée *sélection normalisatrice*. Nous allons étudier maintenant d'autres formes de sélection.

Formes équilibrante et diversificatrice de la sélection naturelle

La situation dans laquelle deux ou plus de deux allèles persistent dans la population avec une fréquence trop élevée pour être due uniquement à l'effet de la mutation est appelée *polymorphisme*. Le polymorphisme est d'un intérêt évident pour l'évolution adaptative puisqu'il maintient une certaine quantité de variabilité dans la population. Cela signifie que la population sera capable de réagir très rapidement à des changements dans l'environnement et évitera, de ce fait, l'extinction.

Un exemple de polymorphisme ayant trait aux groupes sanguins a déjà été étudié dans le chapitre précédent. Prenons à présent l'exemple d'un système dans lequel les individus hétérozygotes présentent une valeur adaptative supérieure à celle de chacun des deux homozygotes (hétérosis) : une maladie hémolytique : l'*anémie falciforme*.

Cette anémie grave de l'homme, appelée aussi drépanocytose, est produite par la synthèse d'une hémoglobine anormale, l'hémoglobine S. La synthèse ou la non-synthèse de la forme anormale de l'hémoglobine est déterminée par un couple d'allèles *A*/*a*. Les individus de génotype *AA* synthétisent une hémoglobine normale, alors que les individus de génotype *aa* synthétisent uniquement l'hémoglobine S; ces derniers, de ce fait, sont atteints de cette maladie hémolytique et thrombosante, d'évolution mortelle. Enfin, les individus de génotype *Aa* synthétisent les deux types d'hémoglobine et jouissent d'une santé à peu près correcte; l'examen de leurs globules rouges ou l'examen électrophorétique de l'hémoglobine permet de les reconnaître.

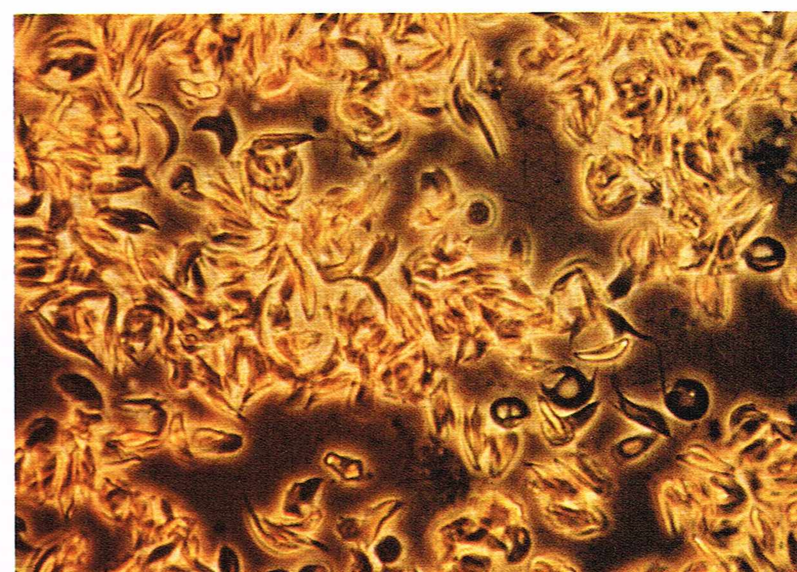
L'allèle *a* est assez fréquent en Afrique; sa fréquence génique y atteint 20 % dans certaines populations. Sa présence n'est pas un caractère racial, puisque des populations d'origines différentes vivant dans la même zone ont des fréquences également élevées; au contraire, des populations de même origine vivant l'une dans une zone basse, l'autre sur des plateaux présentent des fréquences respectivement forte pour la première et faible pour l'autre. La fréquence élevée de cet allèle est en corrélation très étroite avec l'existence à l'état endémique d'une forme grave de la malaria (forme de fièvre paludéenne à *Plasmodium falciparum*). Un faisceau de preuves montre que l'hétérozygote *Aa* présente une résistance à la malaria supérieure à celle de l'homozygote normal *AA*. Ainsi,

▼ *A gauche, tableau représentatif de trois départements français montrant les dangers encourus par la descendance, lors de croisements consanguins (d'après Sutter, 1958). A droite, mise en évidence d'hématies falciformes chez un malade atteint de drépanocytose (anémie falciforme).*

Taux de mortalité pour 1000 enfants de parents connus pour être apparentés ou non

Département	Parents	Mort-nés	Nouveau-nés	de 2 à 12 mois	de 1 an ou plus
Morbihan	Apparentés Non apparentés	50 21	41 23	38 29	96 55
Finistère	Apparentés Non apparentés	28 21	31 13	50 25	96 70
Loir-et-Cher	Apparentés Non apparentés	26 19	30 21	24 19	56 39

Richard Colin



Institut Pasteur

par exemple, on ne trouve pas d'infection élevée susceptible d'entraîner la mort chez les jeunes enfants hétérozygotes. Par ailleurs, la fréquence des hétérozygotes est plus grande chez les jeunes adultes que chez les enfants en bas âge.

La malaria semble être un facteur sélectif important pour le maintien d'autres allèles responsables d'anémies hémolytiques, comme la *thalassémie* ou le déficit en enzyme glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G-6-P-D). La résistance à la malaria conférée par l'absence de G-6-P-D s'ajoute à celle qui est conférée par l'allèle responsable de l'anémie falciforme.

On peut représenter la valeur adaptative des trois génotypes de l'anémie falciforme de la façon suivante :

Phénotype	Non anémique Sujet à la malaria	Non anémique Non sujet à la malaria	Anémique Mort précoce
Génotype	*AA*	*Aa*	*aa*
Fréquence	p^2	2 pq	q^2
Valeur adaptative	$W = 1 - s_1$	$W = 1$	$W = 1 - s_2$

s_1 et s_2 sont les coefficients de sélection respectifs des individus homozygotes ; ils donnent la mesure du défaut d'adaptation de ces derniers comparativement aux hétérozygotes. Comme les anémiques meurent en général avant de pouvoir se reproduire, on peut considérer que $s_2 = 1$. La valeur de s_1, désavantage des homozygotes normaux, dépendra du milieu : elle sera égale à 0 là où il n'y a pas de paludisme, mais sera plus grande que 0 là où cette maladie est présente.

On peut procéder à une estimation de la valeur de s_1 là où la plus forte fréquence génique de l'allèle *a* ($q = 0{,}20$) a été mesurée, en supposant que la population est en état d'équilibre. La proportion d'allèles *A* éliminés par la sélection peut être calculée de la façon suivante : les individus homozygotes *AA* éliminés constituent une fraction s_1p^2 de l'ensemble des génotypes et, pour chaque individu homozygote *AA*, deux allèles *A* sont éliminés, soit $2 \times s_1p^2$. D'autre part, les individus participant à la constitution de la descendance et portant au moins un allèle *A* sont soit des homozygotes *AA* — il y en a $(1 - s_1)\ p^2$ — soit des hétérozygotes *Aa* — il y en a 2 pq — ; les allèles *A* transmis seront au nombre de $2\ (1 - s_1)\ p^2$, (contribution des homozygotes), plus 2 pq (contribution des hétérozygotes). $2\ s_1p^2$ allèles *A* sont donc éliminés, $2\ (1 - s_1)\ p^2 + 2\ pq$ transmis. Par conséquent, la proportion d'allèles *A* éliminés par la sélection à chaque génération est :

$$2\ s_1p^2/2\ s_1p^2 + 2\ (1 - s_1)\ p^2 + 2\ pq =$$
$$s_1p^2/s_1p^2 + (1 - s_1)\ p^2 + pq =$$
$$s_1p^2/p^2 + pq = s_1p^2/p\ (p + q) =$$
$$s_1p^2/p = s_1p$$

De la même façon, la proportion d'allèles *a* éliminés à chaque génération par la sélection est :

$$s_2q_2/s_2q_2 + (1 - s_2)\ q^2 + pq = s_2q^2/q = s^2q = q$$

puisque $s_2 = 1$.

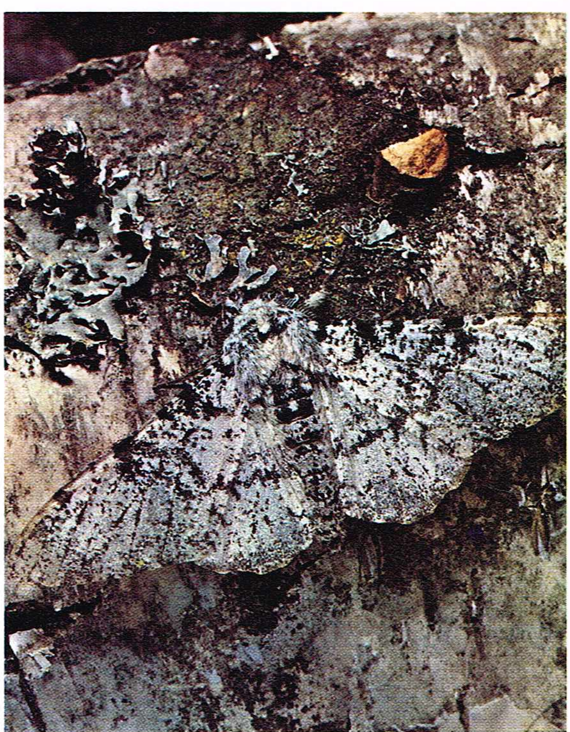
Comme on suppose la population en état d'équilibre, ces deux proportions sont égales : $s_1 \times p = q$, d'où $s_1 = q/1 - q = 0{,}2/0{,}8 = 0{,}25$.

Ainsi, en l'absence de malaria ($s_1 = 0$), l'allèle *a* sera combattu par la sélection comme un allèle récessif désavantageux ; mais, en présence de malaria, là où l'hétérozygote aura un avantage sélectif ($s_1 = 0{,}25$), la sélection établira un équilibre entre les deux allèles *A* et *a*, qui persisteront avec une fréquence du même ordre de grandeur dans la population.

Cette adaptation de la population à l'effet nocif de la malaria se paie par la mort par anémie, à chaque génération, de $q^2 = 0{,}04$, soit 4 % d'enfants. Ce tribut est dû à la maintenance dans le pool génique d'allèles non favorables à l'état homozygote ; il s'agit donc également d'une contribution à la charge génétique de la population.

La sélection directionnelle

La sélection normalisatrice s'oppose à la propagation des allèles désavantageux dans la population ; les formes équilibrante et diversificatrice de la sélection naturelle maintiennent l'état d'adaptation de la population à son milieu ; pour sa part, la forme directionnelle de la sélection modifie la composition génique d'une population en réponse aux transformations du milieu. Elle peut aussi se manifester sans que le milieu ne change, si des mutations ou des combinaisons de gènes, nouvelles ou favorables, surviennent ou sont introduites dans la population.


H. Chaumeton - Jacana

L'exemple le plus spectaculaire de transformations d'une population naturelle est sans doute celui de l'expansion des mutants mélaniques (forme sombre) au sein de plusieurs espèces de phalènes (papillons de nuit) durant le siècle qui a suivi la révolution industrielle en Angleterre. Ainsi, pour l'espèce *Biston betularia,* on comptait, en 1848, dans la région de Manchester 1 % de formes sombres ; dans la même région, en 1898, ces formes constituaient 99 % de la population. Ce phénomène a reçu le nom de *mélanisme industriel des Lépidoptères.* Le mélanisme, dans la plupart des cas, est dû à la présence d'un gène dominant.

L'existence des formes mélaniques dans les régions industrielles est intimement en corrélation avec la pollution des arbres par la suie qui s'y dépose. Dans les régions non polluées, les formes sombres sont éliminées par les Oiseaux prédateurs qui chassent à vue ; les formes sombres, contrairement aux formes claires, se distinguent parfaitement sur le tronc des arbres lorsque ceux-ci sont couverts de Lichens. Ce désavantage n'est pas compensé par l'avantage sélectif des larves qui donnent naissance aux formes mélaniques et qui semblent physiologiquement supérieures. Dans les régions polluées, la situation se renverse. Les formes claires, qui sont presque invisibles sur les troncs couverts de Lichens, se voient parfaitement sur les troncs couverts de suie, là où la pollution a tué les Lichens : ainsi, les formes mélaniques sont camouflées dans les régions polluées. On voit que la sélection favorise les formes mélaniques dans les régions industrielles et les formes claires dans les régions non polluées. Dans les régions polluées, une sélection directionnelle a déplacé la fréquence des individus mélaniques vers une fréquence proche de 1 dans un temps relativement très court (50 ans).

Il est important de connaître les paramètres qui jouent sur la vitesse du processus sélectif directionnel. Admettons l'existence d'un caractère déterminé par un couple d'allèles *A/a* (l'allèle *A* dominant sur l'allèle *a*), et tel que l'individu de génotype *aa* présente une valeur adaptative $W = 1 - s$ plus faible que les deux autres génotypes ; ce cas est exactement ce qui se produit dans le mélanisme industriel. On démontre que la fréquence génique q de l'allèle *a* diminue dans ce cas à un taux Δ q par génération tel que : $\Delta q = -spq^2/(1 - sq^2)$.

Cette formule est intéressante puisqu'elle permet de déduire plusieurs résultats : premièrement, un changement dans les fréquences géniques n'est possible que si


H. Chaumeton - Jacana

s est différent de 0; deuxièmement, quelle que soit la valeur de s appartenant à l'intervalle]0,1], Δ q sera négatif, et l'allèle *a* sera éliminé de la population; ainsi, même une faible différence de valeur adaptative rendra la sélection effective; troisièmement, la vitesse de sélection, mesurée par l'importance du taux de diminution de la fréquence génique de *a* (Δ q), dépend non seulement de la valeur du coefficient de sélection s mais aussi des fréquences p et q des allèles qui sont soumis à la sélection.

q	s = 0,5	s = 0,2	s = 0,1	s = 0,01
0,99	0,00960	0,00240	0,00110	0,000099
0,90	0,06640	0,01930	0,00880	0,000818
0,50	0,07140	0,02630	0,01280	0,001266
0,10	0,00450	0,00180	0,00090	0,000091
0,01	0,00005	0,00002	0,00001	0,000001

q : fréquence relative de l'allèle récessif défavorisé
s : coefficient de sélection

Richard Colin

◀ *Accroissement du changement des fréquences géniques par génération, quand la sélection élimine un gène récessif au profit de son allèle dominant dans la génération qui est soumise à la sélection.*

La sélection est extrêmement efficace lorsque l'allèle récessif est fréquent (entre 50 et 90 %) : le taux de diminution de *a* peut atteindre 7 % par génération pour un coefficient de sélection égal à 0,5. Par contre, elle est très peu efficace lorsque l'allèle récessif est très fréquent ou très rare. Le maintien de plusieurs allèles à fréquences géniques voisines (polymorphisme), dont nous avons déjà donné quelques exemples, permet donc à la population de réagir rapidement aux variations des conditions de milieu et d'éviter, de ce fait, son extinction.

Les migrations

Les espèces qui contiennent un nombre important d'individus ont tendance à se subdiviser en sous-unités pour des raisons géographiques, écologiques, physiologiques ou sociales (c'était le cas par exemple des différentes castes de l'Inde, groupes endogames où les individus étaient également répartis). Dans chacune de ces sous-unités, les processus évolutifs que nous avons décrits (la pression de mutation, la dérive génétique, l'évolution adaptative à travers la sélection naturelle) s'effectuent indépendamment.

Des variétés différentes se développent à l'intérieur d'une espèce et peuvent représenter la première étape dans la formation de nouvelles espèces. Mais, le plus souvent, ces sous-unités, même lorsqu'elles sont bien délimitées, ne sont pas complètement isolées les unes des autres. Chez les espèces animales, par exemple, certains individus migrent occasionnellement. L'incorporation d'immigrants qui, en tant que groupe, présentent des fréquences géniques différentes de celles qui caractérisent la population réceptrice, apportera à cette population des modifications dans son pool génique. Ainsi, dans l'espèce humaine, les migrations ont toujours été très développées. Il semble qu'elles soient responsables, en dépit de la dispersion de l'homme sur la planète et de sa haute faculté d'adaptation à des environnements variés, du maintien d'une espèce unique.

Les changements dans les fréquences géniques sous l'effet des migrations s'expriment par des équations similaires à celles qui ont été présentées dans le chapitre consacré aux effets de la mutation sur les fréquences géniques dans les populations à grand effectif; c'est pourquoi il est inutile de les présenter ici. Néanmoins, le type et la quantité de mouvement dans l'information génétique à l'intérieur des sous-unités qui composent une population peuvent être différents. On distingue, par exemple, les situations dans lesquelles les migrations entre les sous-unités s'effectuent au hasard dans une région donnée de celles où les migrations s'effectuent selon une direction unique créant un flux génétique linéaire.

◀ *Ces deux illustrations, forme claire, page ci-contre, et forme mélanique, ci-contre, de* **Biston betularia,** *sont un des exemples les plus spectaculaires de la* **sélection directionnelle,** *à laquelle on a donné le nom de mélanisme industriel.*

Conclusion

Par souci de simplicité, nous avons envisagé les mécanismes susceptibles de modifier les fréquences géniques des populations, en considérant des situations extrêmes : seules des forces évolutives uniques (mutation, sélection ou dérive, etc.) ont été considérées comme agissant sur les fréquences géniques d'un gène ne comportant que deux allèles. En fait, dans les populations naturelles, il y a presque toujours deux ou plus de deux facteurs agissant conjointement. De plus, les fréquences géniques de gènes différents ne sont pas indépendantes entre elles.

Les maladies héréditaires

La génétique a pris une grande importance dans la médecine contemporaine. Cela est dû non seulement au développement de la génétique fondamentale, mais également à l'augmentation de la part jouée par les maladies héréditaires dans la morbidité générale, puisque les infections virales et surtout bactériennes sont en très grande partie contrôlées.

Les maladies héréditaires les mieux connues sont celles qui sont déterminées par un couple de gènes allèles, l'un des allèles étant responsable du caractère pathologique. Cependant, même dans ce cas, l'étude de la transmission est parfois difficile, car la maladie ne se manifeste pas toujours, même en présence de la constitution génétique appropriée : on parle alors de gène à *pénétrance variable*. De plus, le degré avec lequel les effets apparaissent varie souvent selon les individus; dans ce cas, le gène est dit à *expressivité variable*.

Dans une première partie, nous considérerons des exemples typiques d'hérédité monofactorielle. Ensuite sera abordée l'étude des aberrations chromosomiques constitutionnelles : dans certains cas, il a été possible d'associer à un syndrome particulier des anomalies dans le nombre ou dans l'intégrité des chromosomes. Ces anomalies sont dues la plupart du temps à des erreurs dans la disjonction des chromosomes au cours de divisions cellulaires. Lorsque ces erreurs se produisent très tôt (gamétogenèse, premières divisions de l'œuf), toutes ou la plupart des cellules présentent une garniture chromosomique anormale : les maladies qui en découlent sont dites *constitutionnelles*.

Les maladies héréditaires ne doivent pas être confondues avec les agressions qui se produisent *in utero* (embryopathies et fœtopathies); toutes sont *congénitales* en ce sens qu'elles existent à la naissance, mais les embryopathies (telles que la rubéole, qui présente une activité tératogène principalement lorsque la mère est atteinte pendant les huit premières semaines de la grossesse) et les fœtopathies (telles que la syphilis congénitale) sont

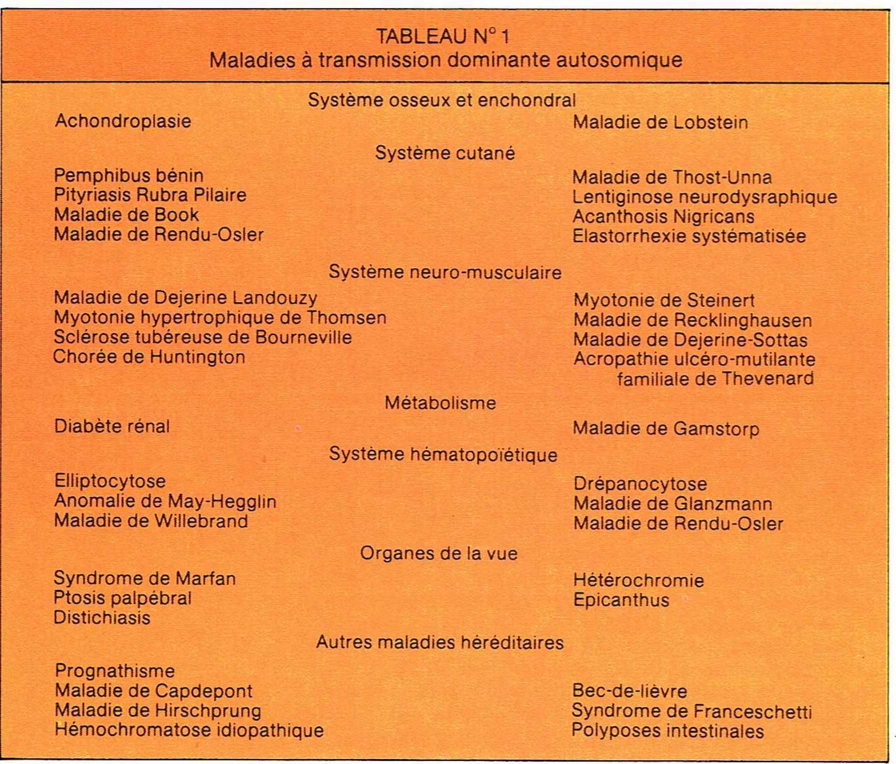


TABLEAU N° 1
Maladies à transmission dominante autosomique

Système osseux et enchondral	
Achondroplasie	Maladie de Lobstein
Système cutané	
Pemphibus bénin	Maladie de Thost-Unna
Pityriasis Rubra Pilaire	Lentiginose neurodysraphique
Maladie de Book	Acanthosis Nigricans
Maladie de Rendu-Osler	Elastorrhexie systématisée
Système neuro-musculaire	
Maladie de Dejerine Landouzy	Myotonie de Steinert
Myotonie hypertrophique de Thomsen	Maladie de Recklinghausen
Sclérose tubéreuse de Bourneville	Maladie de Dejerine-Sottas
Chorée de Huntington	Acropathie ulcéro-mutilante familiale de Thevenard
Métabolisme	
Diabète rénal	Maladie de Gamstorp
Système hématopoïétique	
Elliptocytose	Drépanocytose
Anomalie de May-Hegglin	Maladie de Glanzmann
Maladie de Willebrand	Maladie de Rendu-Osler
Organes de la vue	
Syndrome de Marfan	Hétérochromie
Ptosis palpébral	Epicanthus
Distichiasis	
Autres maladies héréditaires	
Prognathisme	Bec-de-lièvre
Maladie de Capdepont	Syndrome de Franceschetti
Maladie de Hirschprung	Polyposes intestinales
Hémochromatose idiopathique	

Richard Colin

acquises et non héréditaires. Ainsi, dans le cas de la syphilis congénitale, c'est le tréponème qui, traversant le placenta à partir du cinquième mois et lésant ensuite tous les viscères, est responsable de la maladie.

L'hérédité des caractères pathologiques

Un exemple de transmission dominante : l'achondroplasie

Rappelons que l'achondroplasie, que nous avons déjà vue lors de l'étude de la génétique des populations, est une maladie héréditaire caractérisée par un trouble de la croissance du cartilage qui précède la plupart des os. La croissance en longueur des os étant électivement touchée, il en découle un raccourcissement des membres (nanisme).

La maladie est transmise par un gène autosomal dominant. La présence d'un seul allèle responsable du caractère pathologique suffit à provoquer la maladie (transmission dominante). Les individus malades sont donc hétérozygotes. Comme dans la plupart des maladies héréditaires à transmission dominante, on ignore ce que donnerait le phénotype de l'homozygote correspondant ; il est fort probable qu'il est non viable (létal). Lorsque, comme c'est le cas général, un individu atteint épouse une personne saine, il produit deux types de gamètes : l'un porteur de l'allèle responsable du caractère pathogène, l'autre porteur de l'allèle normal. Seuls les premiers donnent naissance à des individus tarés. La descendance d'un tel couple sera donc constituée pour moitié d'individus sains et pour moitié d'individus malades. Puisque le gène est situé sur un autosome, les deux sexes sont également affectés. La maladie ne saute jamais une génération, car l'allèle responsable du caractère pathologique est dominant et sa pénétrance est complète ; les malades naissent toujours d'un parent taré.

Les maladies à transmission dominante les mieux connues sont répertoriées dans le tableau 1. Le menton proéminent (prognathisme) des Habsbourg d'Espagne en est un exemple historique.

Un exemple de transmission récessive autosomique : la phénylcétonurie

Un sujet atteint de phénylcétonurie ne peut transformer un acide aminé (la phénylalanine) en un autre acide aminé (la tyrosine) par suite d'un déficit en une enzyme (l'hydroxylase).

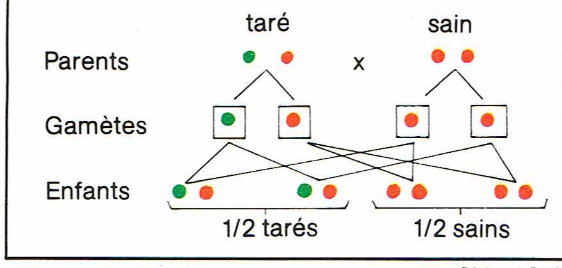
L'accumulation dans l'organisme de la phénylalanine et de ses dérivés est toxique pour le système nerveux. Les sujets tarés deviennent, s'ils ne sont pas traités, des débiles mentaux profonds.

Cette maladie est transmise par un gène autosomal récessif. Seuls les individus possédant deux exemplaires de l'allèle responsable du caractère pathologique manifestent la maladie (transmission récessive). Les sujets atteints naissent donc de parents sains hétérozygotes pour le caractère. Chaque parent hétérozygote produit deux types de gamètes, dont la moitié porte l'allèle normal. Par conséquent, 1/4 des enfants seront tarés, et 3/4 seront sains. Parmi ceux-ci, les 2/3 pourront transmettre, éventuellement, la maladie à leur descendance. Puisque le gène responsable de la maladie est situé sur un autosome, les deux sexes sont également affectés.

La consanguinité augmente de manière importante la probabilité d'avoir un enfant taré, puisque, dans ce cas, les apparentés risquent d'avoir hérité d'un ancêtre

▼ A gauche, étapes enzymatiques bloquées dans le cas de maladies héréditaires du métabolisme des acides aminés aromatiques. A droite, en haut, schéma de transmission d'un caractère pathologique dominant ; en bas, schéma de transmission d'un caractère pathologique récessif.

Richard Colin



Richard Colin

Richard Colin

commun un exemplaire répliqué d'un allèle présent chez un ascendant (voir génétique des populations).

La détection des hétérozygotes qui peuvent transmettre éventuellement la maladie est d'un intérêt évident. Dans le cas de la phénylcétonurie, elle est parfaitement possible par l'épreuve de charge en phénylalanine. Par contre, dans d'autres maladies à transmission récessive, elle n'est pas encore possible.

Un grand nombre de maladies héréditaires, affectant en particulier le métabolisme, sont à transmission récessive autosomique (tableau 2). Parmi elles, citons la *galactosémie congénitale du nouveau-né;* dès l'ingestion de galactose (sucre présent dans le lait) le nouveau-né présente des troubles digestifs. Ultérieurement apparaissent une arriération mentale, un retard statural, etc. L'intérêt du diagnostic précoce est ici évident.

Un exemple de transmission récessive liée au sexe : l'hémophilie

L'hémophilie est une anomalie de la coagulation du sang. Elle fit des ravages dans les familles royales d'Europe, après avoir été introduite par les filles de la reine Victoria et leurs descendants. Cette maladie, qui détermine des hémorragies soit spontanées, soit provoquées, apparaît habituellement dans l'enfance ou l'adolescence. Elle est due à l'absence de globuline antihémophilique A ou B. Que ce soit la forme A ou B, elle est contrôlée par un gène localisé sur le chromosome X. Comme il n'y a pas de gène équivalent sur le chromosome Y, sa transmission est liée au sexe. Les femmes porteurs de l'allèle responsable de la maladie ne sont jamais affectées à moins qu'elles ne soient homozygotes pour cet allèle (transmission récessive). Les hommes, au contraire, présentent toujours la maladie s'ils possèdent cet allèle (les hommes ne possèdent qu'un seul chromosome X).

Les malades naissent la plupart du temps de l'union d'une femme hétérozygote, donc saine mais *conductrice,* et d'un homme sain. Ce couple a une chance égale d'avoir : un garçon taré ; un garçon sain ; une fille conductrice ; une fille saine non conductrice.

L'hémophilie est absolument exceptionnelle chez les femmes puisqu'elle suppose l'union d'un homme taré et d'une femme conductrice. Enfin, un homme taré uni avec une femme saine non conductrice donnera naissance à des filles toutes conductrices et à des garçons tous sains.

D'autres maladies héréditaires se transmettent à la manière de l'hémophilie. Elles sont répertoriées dans le tableau 3.

Autres modes de transmission

Les maladies à transmission dominante liée au sexe sont très rares ; c'est le cas des *nystagmus* héréditaires isolés, qui se caractérisent par des anomalies des muscles de l'œil.

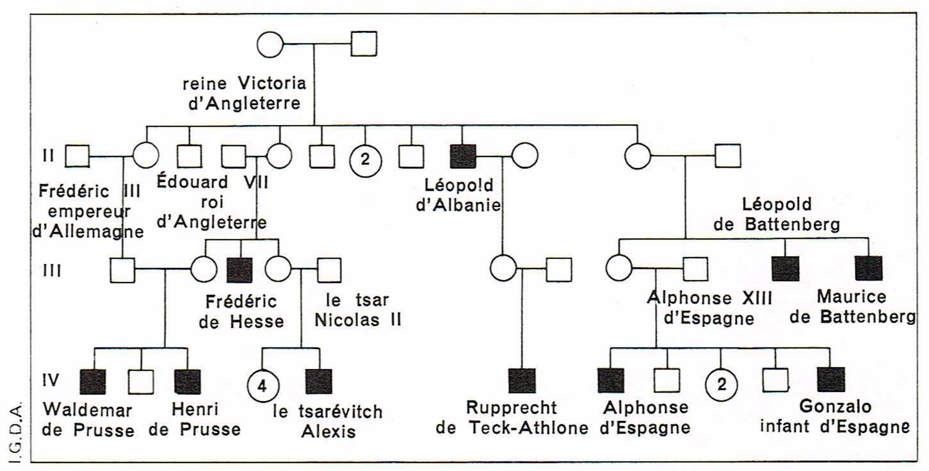
Il est aisé de comprendre que le déterminisme des maladies contrôlées par plusieurs gènes ne sera pas aussi facilement analysable que celui des maladies à hérédité monofactorielle ; et cela d'autant plus que peuvent se surajouter divers effets de l'environnement. Par exemple, l'*ulcère gastro-duodénal* et la *sténose hypertrophique du pylore* affectent de façon prédominante le sexe masculin. De même, il existe des maladies

TABLEAU N° 2

Maladies à transmission récessive autosomique

Système osseux et enchondral	
Maladie de Morquio	Maladie de Porak et Durante
Maladie d'Albers-Schonberg	
Système cutané	
Maladie de Meleda	Albinisme
Xeroderma pigmentosum	Syndrome de Rothmund
Syndrome de Werner	
Système neuro-musculaire	
Myopathies des ceintures	Microcéphalie
Maladie de Werdnig-Hoffmann	Epilepsie myoclonique familiale
Leuco dystrophies familiales progressives	
Métabolisme des hydrates de carbone	
Galactosémie	Intolérance pour le fructose
Glycogénoses	Fructosurie essentielle
Pentosurie essentielle	
Métabolisme des lipides	
Hyperlipémie essentielle	Maladie de Niemann Pick
Maladie de Gaucher (forme neurologique)	Idioties amaurotiques
Métabolisme des protéines	
Phénylcétonurie	Albinisme
Alcaptonurie	Leucinose
Maladie de Hartnup	Cystinose
Cystinurie-lysinurie	
Autres métabolismes	
Maladie de Crigler-Najjar	Maladie de Wilson
Système hématopoiétique	
Maladie de Chediak	Maladie de J. Bernard et Soulier
Maladie de Fanconi	Déficit en facteur V, VII et X
Endocrinologie	
Hyperplasies congénitales des surrénales	Troubles de l'hormonosynthèse thyroïdienne
Organes de la vue	
Acromatopsie	Maladie de Behr
Rétinites pigmentaires	Syndrome de Marfan
Hydrophtalmie	Anophtalmie
Autres maladies héréditaires	
Syndrome de Kartagener	Mucoviscidose
Néphrophtisie	Lithiase cystinique
Acatalasie	

Richard Colin



I.G.D.A.

▲ *Arbre généalogique de l'hémophilie dans les familles royales d'Europe après qu'elle eut été introduite par les filles de la reine Victoria : les femmes sont indiquées par un cercle, les hommes par un carré blanc ; les individus affectés de la maladie sont indiqués par un carré noir.*

▼ *A droite, schéma de transmission d'un caractère pathologique récessif lié au sexe.*

mère conductrice — père sain

Parents: X● X● x X● Y

Gamètes: X● | X● | X● | Y

Enfants: X● X● — X● X● — X● Y — X● Y

fille saine conductrice 1/4 — fille saine non conductrice 1/4 — garçon taré 1/4 — garçon sain 1/4

Richard Colin

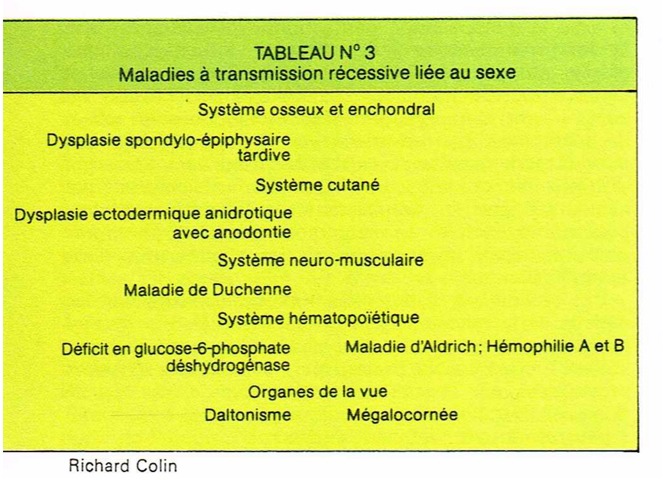


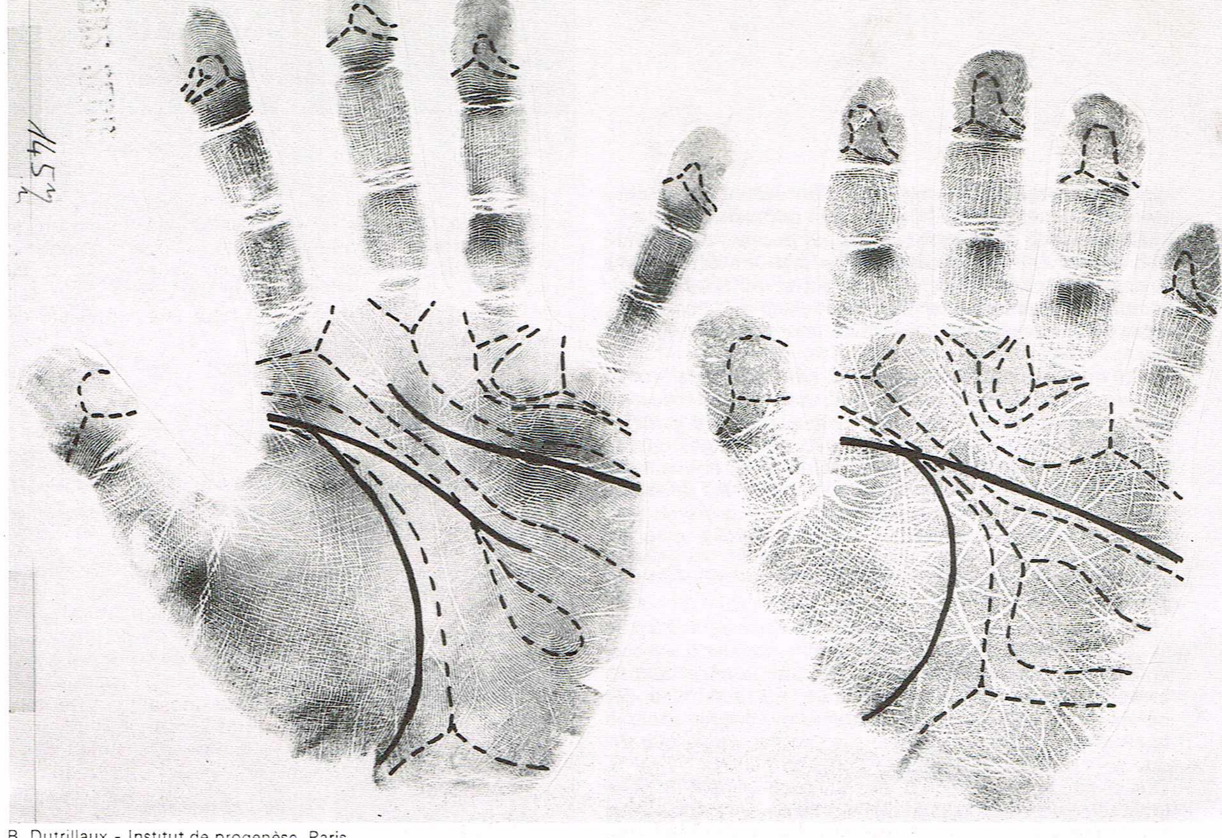
TABLEAU N° 3

Maladies à transmission récessive liée au sexe

Système osseux et enchondral	
Dysplasie spondylo-épiphysaire tardive	
Système cutané	
Dysplasie ectodermique anidrotique avec anodontie	
Système neuro-musculaire	
Maladie de Duchenne	
Système hématopoïétique	
Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase	Maladie d'Aldrich ; Hémophilie A et B
Organes de la vue	
Daltonisme	Mégalocornée

Richard Colin

▶ *Côte à côte sont représentées, à gauche, les empreintes palmaires d'une femme normale, à droite, celles d'un garçon trisomique. Chez ce dernier, on remarquera la fusion de deux plis de flexion (traits pleins) en un pli unique et l'orientation trop horizontale des crêtes (tireté); on note également la forme générale de la main, trapue, avec des phalanges très courtes.*



B. Dutrillaux - Institut de progenèse, Paris

▼ *Les grains de chromatine sexuelle ou corps de Barr sont absents dans les cellules (A) et dans les granulocytes (B) des individus mâles; ils sont présents dans les cellules des individus femelles (C) accolés à la membrane nucléaire (gcs) et sous forme d'appendice nucléaire (an) dans leurs granulocytes (D).*

héréditaires qui touchent particulièrement certaines ethnies; il en est ainsi de la *maladie de Tay-Sachs*, affection neuro-musculaire qui s'observe essentiellement chez les Juifs d'Europe centrale.

Remarques

Considérée isolément, chacune des maladies héréditaires est extrêmement rare. Cependant, étant donné leur nombre, elles constituent, dans leur ensemble, un fardeau important; on estime qu'un enfant sur cent est atteint d'une affection génétique.

Les maladies héréditaires, qui restent encore incurables dans leur très grande majorité, peuvent, au moins dans certains cas, être traitées de façon satisfaisante; cela d'autant mieux que le diagnostic est précoce. Un dépistage systématique doit être entrepris lorsque cela est possible. Par exemple, en France, le test de Guthrie permet de déceler la phénylcétonurie à la naissance.

Les aberrations chromosomiques constitutionnelles

On estime qu'une conception sur vingt est anormale sur le plan chromosomique. Toutefois, comme la plupart des anomalies chromosomiques n'arrivent pas à terme, seulement un enfant sur deux cents présente ces anomalies. Les maladies qui en résultent sont diversement graves selon qu'elles affectent ou non les chromosomes sexuels.

Nous en étudierons quelques cas après avoir énuméré les techniques de détection.

Techniques de détection

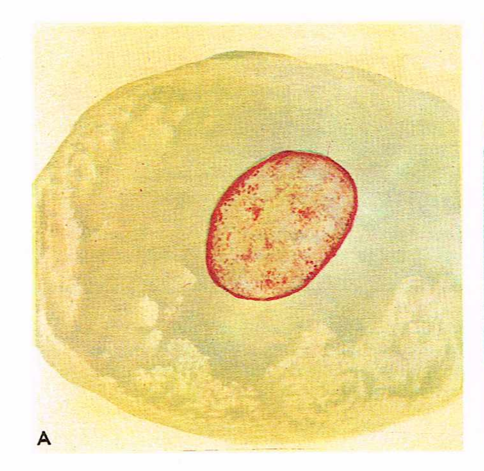
Détermination du caryotype

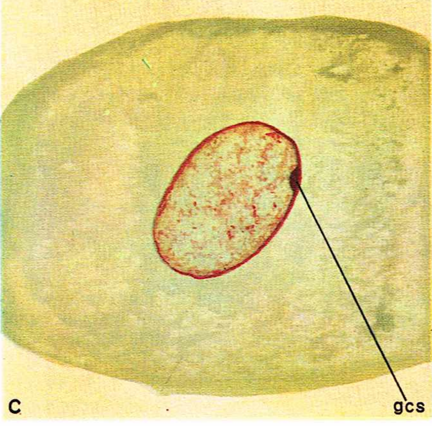
La reconnaissance précise des anomalies chromosomiques ne peut s'effectuer que dans la mesure où l'on dispose de techniques d'analyse permettant d'identifier tous les chromosomes. L'ensemble des chromosomes, une fois identifiés, constitue la garniture chromosomique de l'individu, son caryotype.

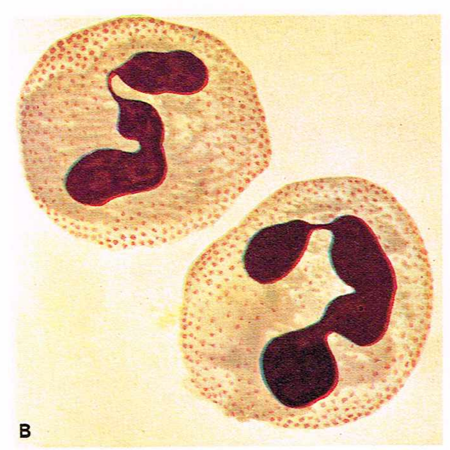
Les chromosomes s'individualisent en prophase de mitose. On distingue alors les deux chromatides qui ne sont plus attachées que par leur centromère. Il est donc nécessaire d'isoler des cellules se divisant activement, puis de les mettre en culture.

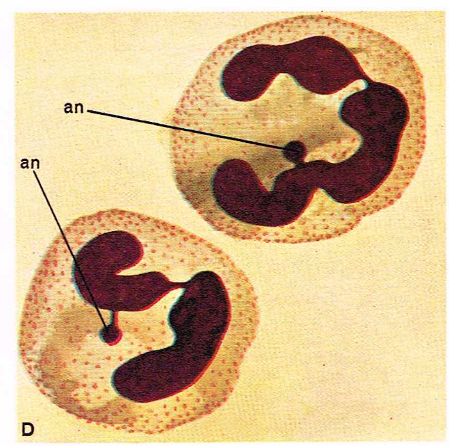
Les premières techniques ont utilisé les cultures de fibroblastes, avec prélèvement d'un fragment de tissu, de peau ou d'aponévrose. Actuellement, on sait induire *in vitro* la multiplication des lymphocytes prélevés dans le sang périphérique grâce à la phytohémagglutinine extraite du haricot. Cette technique est plus rapide et évite la biopsie tissulaire. Les mitoses des cellules en culture sont alors synchronisées et bloquées en début de métaphase par un traitement à la colchicine. Les noyaux sont ensuite soumis à un choc osmotique qui disperse les chromosomes. On fixe ces derniers par l'acide acétique; on fait éclater les cellules sur une lame, puis on les colore. Les chromosomes sont photographiés et, après agrandissement des clichés, découpés et appariés.

Des techniques récentes de fluorescence (utilisant les dérivés de la quinacrine) et de dénaturation ont montré l'existence de bandes situées tout au long des chromosomes. Elles devraient permettre de dépister des maladies provoquées par l'excès ou la déficience d'une ou de quelques bandes chromosomiques, ce qui correspond à peu près à une centaine de gènes.









I.G.D.A.

Examen des dermatoglyphes

La disposition des plis et des crêtes dermiques est souvent anormale chez les sujets porteurs d'anomalies chromosomiques constitutionnelles. L'étude se décompose en deux examens : tout d'abord, l'examen des plis de flexion palmaires (chez l'individu normal, ils sont au nombre de trois) et des plis de flexion des doigts; ensuite l'examen des dermatoglyphes proprement dits, c'est-à-dire des dispositions des crêtes dermiques.

Détection du sexe chromatinien

Chez la femme normale, on observe dans un frottis buccal la présence d'une condensation de chromatine à l'intérieur du noyau des cellules, accolée à la membrane nucléaire : c'est le corpuscule de Barr, qui n'existe pas chez l'homme. On admet qu'il correspond à l'un des chromosomes X de la femme; chez la femme normale, l'un des chromosomes X serait génétiquement inactif, soit le X d'origine paternelle, soit le X d'origine maternelle (au hasard selon les cellules). L'absence ou la présence d'un ou de plusieurs corpuscules de Barr est donc un moyen de déceler d'éventuelles anomalies dans le nombre des chromosomes X chez un individu.

TABLEAU N° 4

Liaison entre la fréquence du mongolisme et l'âge maternel

Age de la mère (en années)	20-30	30-35	35-40	40-45	> 45
Risque d'avoir un premier enfant mongolien	1/1500	1/750	1/600	1/300	1/60

Richard Colin

Les maladies autosomiques

Un exemple de trisomie : le mongolisme

Le nombre de chromosomes de l'espèce humaine a été définitivement connu en 1956. Trois ans plus tard, Lejeune et ses collaborateurs découvraient la première maladie par aberration chromosomique en montrant que le mongolisme était dû à la présence d'un chromosome 21 surnuméraire, c'est-à-dire à une trisomie 21.

Les signes cliniques de la maladie ont été décrits pour la première fois en 1866 par Langdon-Down : microcéphalie (tête plus petite); fentes palpébrales obliques en haut et en dehors, et repli cutané à l'angle interne de l'œil (seuls points communs avec la race mongole); oreilles plus petites; langue fissurée, dépapillée et souvent sortie; plis de flexion de la paume et crêtes dermiques mal disposés; écart exagéré entre les deux premiers orteils. La fréquence de la maladie est de l'ordre de 1/600 naissance; cependant, comme le montre le tableau 4, il existe une liaison entre la fréquence de ce syndrome et l'âge de la mère.

Habituellement, les trisomies comme la trisomie 21 sont produites par différents types d'erreurs dans la disjonction des chromosomes au cours de la méiose; une paire de chromosomes ne se sépare pas à l'anaphase de la première division, ce qui conduit à la formation de gamètes qui contiennent l'un des chromosomes en deux exemplaires et de gamètes sans exemplaire de ce même chromosome.

Si un gamète avec deux exemplaires d'un même chromosome fertilise un gamète normal, l'enfant résultant possédera trois exemplaires d'un même chromosome au lieu de deux : il sera dit *trisomique pour ce chromosome* (en tout, il aura 47 chromosomes). Si, par ailleurs, le gamète sans exemplaire de ce chromosome fertilise un gamète normal, l'individu résultant ne possédera qu'un seul exemplaire de ce chromosome : il sera dit *monosomique* (au total, il possédera 45 chromosomes). Les monosomies autosomiques sont habituellement non viables. On pense enfin que la méiose maternelle est plus souvent en cause que la méiose paternelle.

Plus rarement, le mongolisme peut être dû à une *translocation* entre le chromosome 21 et un autre chromosome (le plus souvent un grand télocentrique 13-15). Ce type de mongolisme est héréditaire.

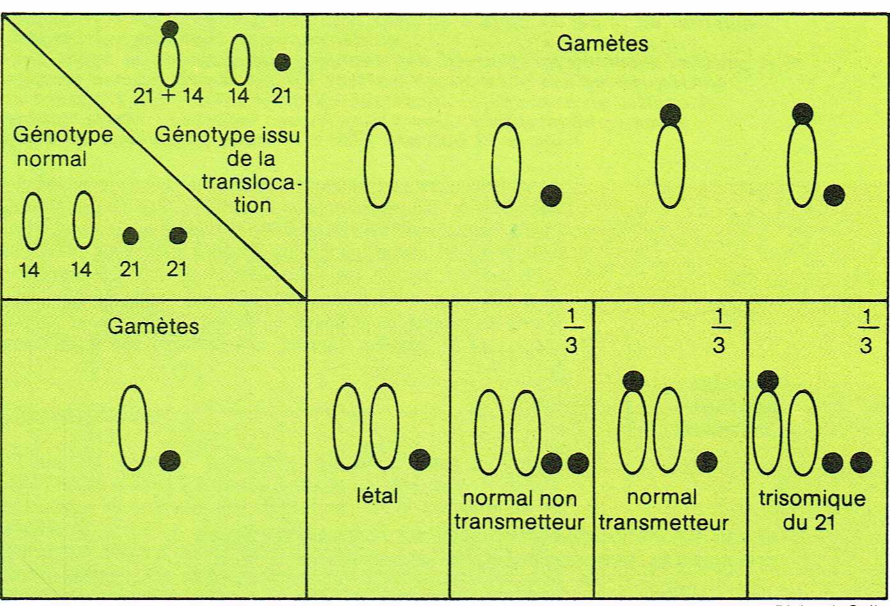
La figure ci-contre, en haut, montre la transmission à partir de l'union d'un individu chez qui une translocation s'est produite (fusion d'un chromosome 21 et d'un chromosome 14) avec un individu normal. La fusion de deux chromosomes n'affecte pas nécessairement le phénotype de l'individu, puisque ce dernier n'a pas de matériel chromosomique en défaut ou en excès. Du fait que l'individu monosomique qui peut être formé par ce couple n'est pas viable, il existe une chance sur trois pour que ce couple enfante un individu mongolien. D'autre part, parmi les enfants normaux, la moitié sera porteuse de la translocation.

Il est donc important, lorsque des parents ont déjà enfanté un mongolien, de savoir si cette maladie est due à une translocation puisque, dans ce cas, la probabilité pour que ce couple enfante un deuxième enfant mongolien est égale non pas à 1/600 mais à 1/3.

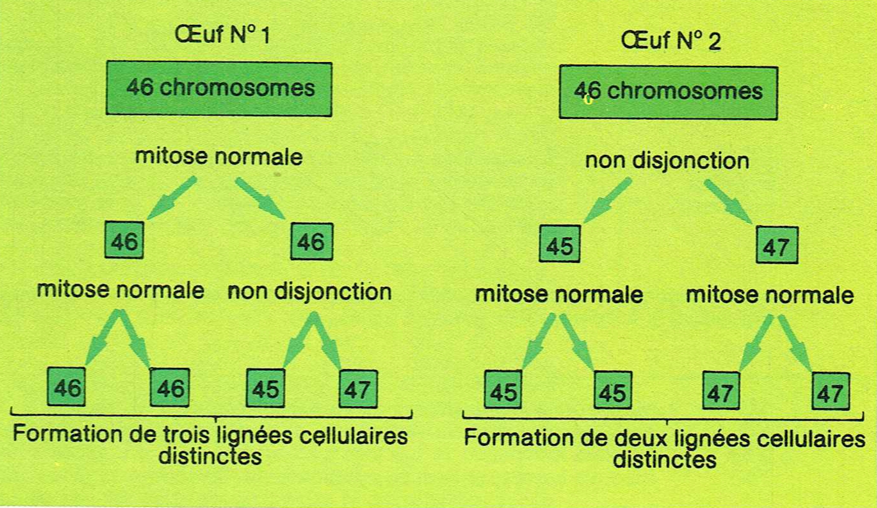
Parfois, une *non-disjonction* intervient après que le zygote a été formé. Cette non-disjonction est, par conséquent, d'origine mitotique et peut se produire à n'importe quelle division, de telle sorte que deux ou plus de deux lignées cellulaires distinctes peuvent être établies. On parle alors de *mosaïque chromosomique*. La sévérité du symptôme est directement liée à la proportion de cellules trisomiques dans l'individu mosaïque. De tels individus peuvent apparaître normaux ou presque normaux mais produire deux types de gamètes selon le type cellulaire qui est à leur origine. Dans ces conditions, le risque d'avoir des enfants mongoliens est considérablement augmenté.

D'autres trisomies ont été mises en évidence dans l'espèce humaine, notamment la trisomie 18 ou la trisomie 13-15. Dans ces deux cas, le décès intervient dans les premières années sinon dans les premiers mois.

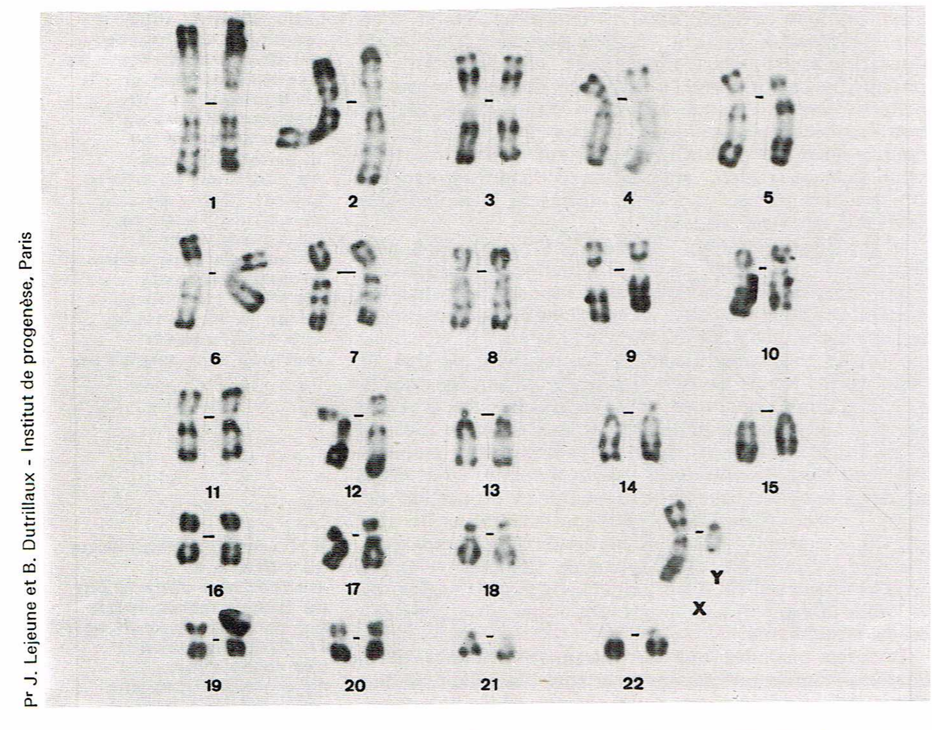
▼ ***En haut, transmission héréditaire du mongolisme dans le cas de translocation entre les chromosomes 21 et 14. En bas, formation des mosaïques chromosomiques par non-disjonction au cours de la mitose.***



Richard Colin



Richard Colin



Pr J. Lejeune et B. Dutrillaux - Institut de progenèse, Paris

▲ **Maladie du cri du chat** *chez un garçon (formule 46, XY, 5p) : il y a délétion de la partie distale du bras court du chromosome 5 (méthode de dénaturation thermique ménagée).*

▼ *A gauche, schéma représentatif des anomalies de disjonction ayant pour conséquences des* **aberrations** *portant sur les* **chromosomes sexuels.** *A droite, un exemple de* **mosaïque chromosomique** *apparaissant au niveau phénotypique. Une petite Noire, tachetée : Maria Sabina, née le 12 octobre 1736 à Matuna (Amérique du Sud).*

Un exemple de déficience chromosomique : le syndrome du cri du chat

La maladie du cri du chat, due à la perte d'un segment du bras court du chromosome 5, paraît la plus fréquente des déficiences autosomiques compatibles avec la vie (0,1 à 0,2 malade pour 1 000 naissances). Parmi les différents signes cliniques, le cri si particulier (tonalité plaintive et aiguë) est lié à l'étroitesse du larynx. Des anomalies se produisent dans les dermatoglyphes, et le retard psychomoteur est considérable. L'évolution de la maladie semble dépendre en partie des malformations cardio-vasculaires. En leur absence, les enfants peuvent survivre jusqu'à l'âge adulte.

Autres aberrations

D'autres aberrations sont connues. Ainsi, le chromosome 18 peut se présenter en anneau ; des mosaïques avec triploïdie peuvent se produire. Ces cas sont rares et pratiquement toujours associés à une arriération mentale et des malformations multiples.

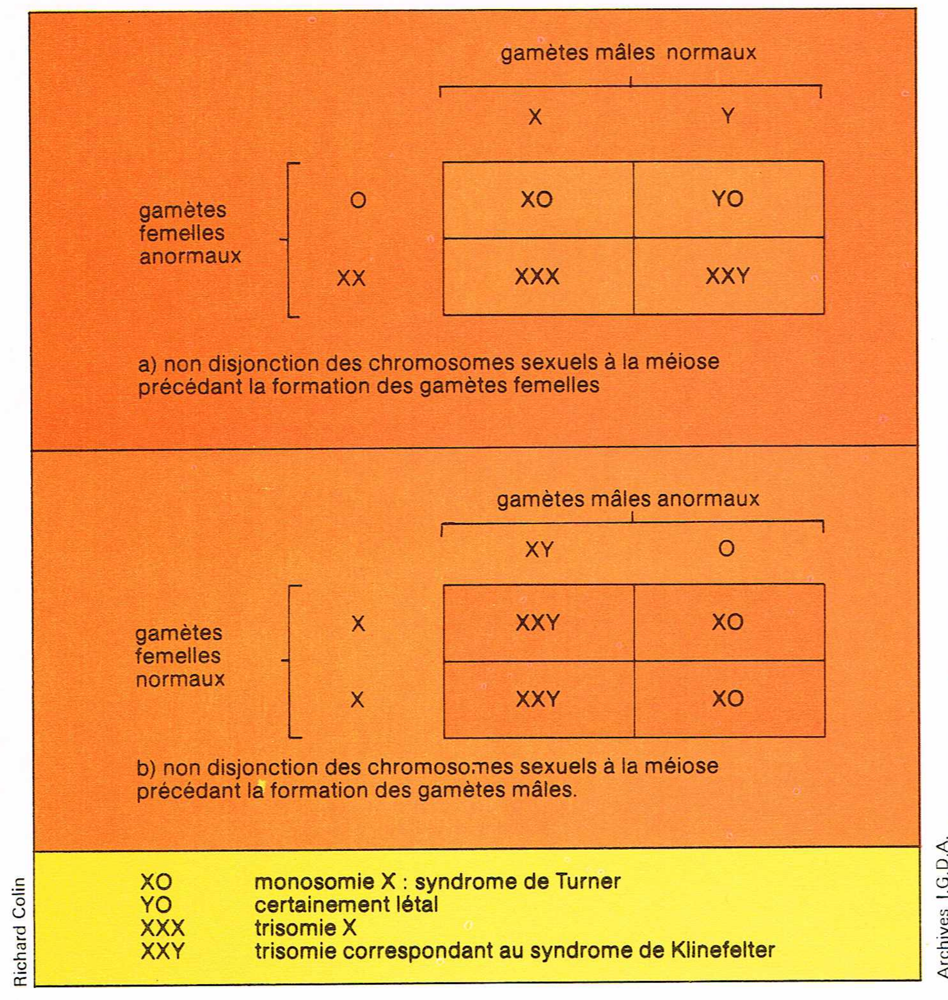
Anomalies des chromosomes sexuels

Les conséquences d'aberrations portant sur les chromosomes sexuels sont toujours moins graves que celles qui portent sur les autosomes, ce qui justifie qu'on les traite séparément. D'autre part, le nombre des mosaïques est beaucoup plus grand dans ces dernières anomalies.

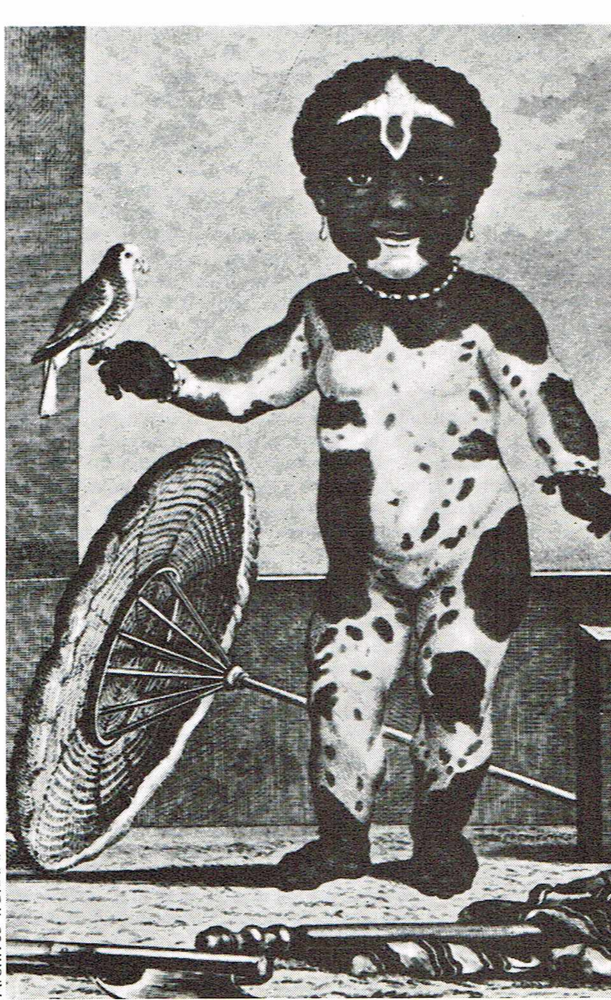
Le syndrome de Turner

Sous sa forme typique, cette maladie associe une petite taille, un infantilisme génital, une dysménorrhée et des malformations comme l'atrophie des ovaires. Sa fréquence est voisine de 0,4/1 000.

L'anomalie chromosomique la plus habituelle est la monosomie X (caryotype à 45 chromosomes). Dans ce cas, la chromatine sexuelle est de type masculin sans corpuscule de Barr visible. L'un des chromosomes sexuels est donc absent du fait d'une non-disjonction à la méiose précédant la formation des gamètes.



Richard Colin



Archives I.G.D.A.

◀ *Représentation schématique de l'origine des* **isochromosomes** *par clivage anormal du centromère des chromosomes X au cours de la mitose.*

On observe également des caryotypes mosaïques de type 45 X/46 XX ou 45 X/46 XX/47 XXX ou 45 X/46 XY..., ce qui explique que dans certains cas (1/5 du total), on trouve des corpuscules de Barr. L'existence de corpuscules de Barr s'explique également, dans d'autres cas, par la présence simultanée d'un chromosome X normal et d'un chromosome X anormal, lequel est un *isochromosome*. L'isochromosome est constitué soit de deux bras courts, soit de deux bras longs; il semblerait que les gènes présents sur les bras long et court des deux chromosomes X soient nécessaires pour le développement d'ovaires fonctionnels.

L'anomalie triplo X

C'est la plus fréquente des anomalies des chromosomes sexuels chez la femme : sa fréquence d'apparition est voisine de 1/1 000. Elle correspond à des phénotypes variés : malformations diverses, troubles gynécologiques, débilité mentale inconstante. Le caryotype comprend 47 chromosomes dont 3 X, et la chromatine sexuelle est double (deux corpuscules).

Le syndrome de Klinefelter

C'est la plus fréquente des anomalies des chromosomes sexuels chez l'homme (1/500 naissance). C'est souvent à la période pubertaire ou postpubertaire que le diagnostic est porté : on constate principalement une atrophie testiculaire avec stérilité; d'autres troubles, plus ou moins constants, lui sont associés : un aspect gynoïde, un développement mammaire, une absence de barbe, etc. Le caryotype est habituellement à 47 chromosomes (XXY). L'un des chromosomes surnuméraires provient d'une erreur de disjonction à la méiose qui précède la gamétogenèse. La chromatine sexuelle est de type féminin. On observe également des caryotypes mosaïques; les individus possédant la mosaïque 46 XY/47 XXY présentent la possibilité de procréation.

Autres anomalies

La presse s'est faite l'écho d'une statistique portant sur des sujets agressifs et délinquants montrant une forte fréquence de caryotype XYY. En fait, cette anomalie est très fréquente dans la population en général (1/1 000).

L'hermaphrodisme vrai est caractérisé par la présence simultanée de tissus testiculaire et ovarien. De nombreuses variétés de caryotype ont été rapportées : 46 XX/47 XXY; 46 XX/47 XXY/48 XXYY/46 XY/45 X, parfois 46 XX et, plus rarement, 46 XY. La constitution 46 XY/46 XX est d'un intérêt particulier : on a pu montrer qu'elle était due à la double fécondation, par deux spermatozoïdes, d'un ovule qui n'avait pas expulsé son globule polaire.

Conclusion

Une des grandes questions qui se posent à l'heure actuelle, et dont la réponse peut avoir des répercussions immenses dans tous les domaines, qu'il s'agisse de la psychologie, de la sociologie ou de la politique, est de savoir ce qui est héréditaire et ce qui ne l'est pas. Ce qu'on appelle l' « intelligence » est-il déterminé par des gènes, comme le sont la vision des couleurs ou les groupes sanguins? On dit volontiers que certaines personnes sont plus « sociables » que d'autres : leur attitude serait-elle le résultat d'une nouvelle combinaison des gènes de leurs parents? Ce type de problèmes est rendu presque inextricable du fait de l'existence du langage humain, qui permet de transmettre une information (extérieure à l'ADN) d'une génération à l'autre. Cette « hérédité orale », qui assure la relative permanence de la culture d'une société donnée, risque de masquer ce qui participe de l'hérédité proprement génétique. Certains penseurs de l'une ou l'autre des écoles philosophiques ont cru pouvoir se débarrasser de l'héritage génétique que les hommes ont accumulé tout au long de leur évolution.

E. Morin pose ainsi le problème : « Nous admettons, depuis Darwin, que nous sommes fils de Primates, mais non que nous sommes nous-mêmes des Primates. Nous sommes convaincus que, descendus de l'arbre généalogique tropical où vivait notre ancêtre, nous nous en sommes échappés à jamais, pour nous construire, hors de la nature, le royaume indépendant de la culture. » Cette séparation rigide entre nature et culture est en passe d'être sapée à la base par les concepts qui se dégagent des conquêtes de la nouvelle biologie. Les premiers acquis ont été destructeurs : ainsi, le passage du niveau

M. Pedone

▲ *Les caractères dits quantitatifs dépendent de facteurs génétiques nombreux et sont d'une grande importance pratique en ce qui concerne la sélection d'espèces animales et végétales d'intérêt économique. C'est le cas notamment de la production de lait de vache.*



▶ *Cultivar de citrons siciliens; la plante, hybride de citron et de cédrat, est très vigoureuse et peut atteindre 6 m de haut.*

M. Pedone

cellulaire au niveau moléculaire a démontré qu'il n'y a pas une matière vivante, mais des systèmes vivants. D'un point de vue chimique, les mêmes atomes sont présents dans la sphère minérale et dans la mince pellicule de vie qui l'entoure, mais ils y sont organisés d'une *manière particulière*.

Après la découverte des molécules, est venue celle de leur organisation dans la cellule. La description de l'organisation particulière des systèmes vivants a requis l'utilisation de principes et de termes nouveaux, tant en biologie qu'en chimie, concepts empruntés à l'informatique et à la cybernétique : information, code, message, traduction, répression, régulation, expression, contrôle. C'était appliquer à la cellule la notion de machine : l'unité fondamentale de la vie était considérée comme « une totalité organisée, non réductible à des éléments constitutifs, lesquels ne sauraient être correctement décrits isolément à partir de leurs propriétés particulières; l'unité supérieure (la machine) ne peut se dissoudre dans les unités élémentaires, mais au contraire apporte l'intelligibilité des propriétés qu'elles manifestent » (Morin).

Il y a, dans les descriptions des mécanismes vivants, non seulement des références à l'idée de machine, mais aussi l'emploi de termes extraits de l'expérience des relations humaines : message, inhibition, traduction, etc. S'il semble possible d'employer les mêmes termes quand on étudie la cellule et la société, si les interactions nées de l'organisation suivent des principes identiques tant au niveau des molécules dans la cellule qu'au niveau des hommes dans une société, c'est que l'homme est aussi une totalité organisée. Il n'est pas constitué de deux couches superposées, l'une naturelle, l'autre culturelle. L'évolution, dont l'homme est le produit, ne l'a pas fait sortir du règne naturel : il ne descend pas du singe, il *est* un singe.

Ainsi la nouvelle biologie a réglé son compte à la vieille querelle des vitalistes et des réductionnistes, en renvoyant les adversaires dos à dos. Elle a aussi détruit l'idée qu'il pouvait exister des sciences de l'homme séparées des sciences de la nature. Le processus d'intégration est encore l'œuvre de pionniers, mais leur démarche intellectuelle est tellement fructueuse que le mouvement amorcé ne peut plus s'arrêter.

Ainsi donc, tous les aspects de l'homme sont susceptibles d'être étudiés avec l'aide des sciences naturelles. L'approche génétique du phénomène humain est parfaitement justifiée et utile, non seulement quand son objet est l'anatomie ou la physiologie, mais aussi quand il s'agit de la psychologie ou de la vie sociale.

Si tous les caractères manifestés par un individu sont *susceptibles* d'être *héréditaires*, en fait, seuls les caractères *innés*, c'est-à-dire ceux qu'il tient de ses parents, le sont en réalité. Les caractères acquis, c'est-à-dire ceux qui résultent du modelage que le milieu a exercé sur lui au cours de sa vie, ne le sont pas. Il ne s'agit pas là d'un dogme, mais d'une hypothèse qui est très vraisemblable, car aucune expérience n'a jamais pu l'infirmer : on n'a jamais pu montrer que le patrimoine héréditaire des gènes pouvait être modifié par les conditions de milieu auxquelles l'organisme est soumis.

Si la situation est très claire en ce qui concerne nombre de caractères présentant une hérédité très simple, que l'on peut attribuer à la ségrégation d'un couple d'allèles, il en est beaucoup d'autres, en particulier les *caractères* dits *quantitatifs* (comme la taille ou le poids d'un organisme), dont les fluctuations dans une population montrent qu'ils dépendent de facteurs génétiques nombreux. On parle alors d'une *hérédité polygénique*. Il ne s'agit plus de caractères alternatifs bien contrastés, mais de différences de degrés le long d'échelles de mesures continues, et qui s'expriment en longueur, poids, volume, etc. Ce sont des variations de nature *quantitative*. Ces variations dépendent de l'action ou de l'interaction de nombreux gènes. C'est le cas de la taille des individus, de la ponte des poules, du rendement d'une variété de blé, de la production de lait des vaches, etc. On voit que les caractères quantitatifs sont d'une grande importance pratique; leur étude débouche sur les applications les plus immédiates de la génétique, en particulier en ce qui concerne la sélection d'espèces animales et végétales d'intérêt économique.

Il existe de nombreux modes de croisements entre individus d'une même espèce. On a vu, lors de l'étude des cycles et de la reproduction sexuée, que, dans certaines espèces végétales, la plus grande partie des plantes était *autogame*, c'est-à-dire s'autofécondait. Une des conséquences de l'*autogamie* est que ces plantes deviennent rapidement homozygotes. Il existe des plantes où, au contraire, l'*allogamie* (croisement entre individus différents) est le mode de croisement préférentiel, ce qui maintient un état hétérozygote très poussé. Quand on réussit à obliger deux plantes d'une espèce naturellement autogame à se croiser, on constate un phénomène très important dans les individus de la génération F1 : l'*hétérosis*, ou *vigueur hybride*. Par exemple, si l'on croise deux variétés très homozygotes de maïs, la descendance hybride est constituée de plantes beaucoup plus vigoureuses que leurs parents, et cela uniformément. L'hétérosis est un phénomène très important pratiquement et très intéressant pour le chercheur.

On peut expliquer l'hétérosis par des interactions entre allèles : en croisant deux plantes homozygotes pour un couple d'allèles $a_1a_1 \times a_2a_2$, on obtient en génération F1 des hétérozygotes a_1a_2. Les hybrides auraient une vigueur supérieure à chacun des parents, car ils exprimeraient la *somme* des produits des allèles a_1 et a_2. Cette interaction entre allèles est appelée par les sélectionneurs la *surdominance*. Notons cependant que certains généticiens pensent qu'il n'est pas nécessaire de faire appel à la notion de surdominance pour expliquer la vigueur hybride.

L'hétérosis peut être expliqué par l'interaction entre allèles dominants de gènes différents : les allèles dominants seraient favorables à la vigueur, et les récessifs seraient défavorables. Dans une population de plantes autogames, il n'y a pas de passage de gènes d'une lignée à l'autre, car le mode de croisement est l'autofécondation. L'homozygotie qui en résulte atteint tous les gènes. Dans une lignée donnée, certains *loci* vont être occupés par des allèles plus ou moins favorables à la vigueur des plantes. Si, comme on l'a supposé, les allèles favorables à la vigueur sont dominants, la fabrication d'une plante hybride va permettre d'avoir des allèles dominants (favorables à la vigueur) dans un nombre de *loci* plus grand que dans chaque parent. La plante hybride exprimera donc une vigueur plus grande : c'est l'hétérosis.

On pense, à l'heure actuelle, que les deux types d'explications sont sans doute valables l'un et l'autre, à des degrés différents selon les cas.

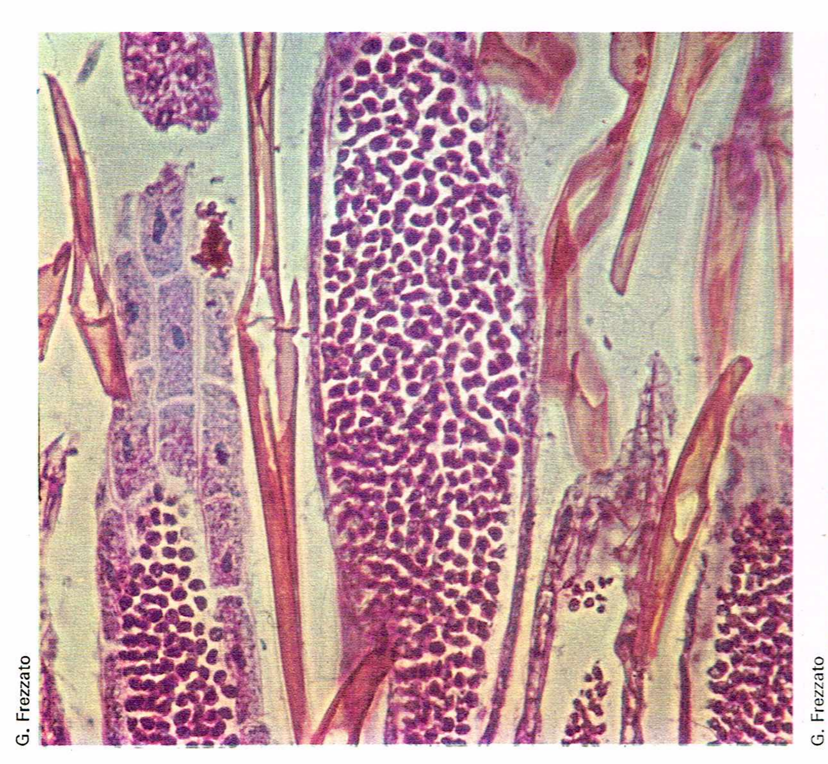
La nature de l'action des gènes dans les systèmes polygéniques reste encore un peu obscure. Il est clair cependant qu'ils n'opèrent pas entièrement par des effets simplement additifs.

La compréhension du fondement génétique des espèces vivantes et des mécanismes qui entrent en jeu est loin d'être complète, mais elle est substantielle. Le progrès de la génétique est un facteur permettant une meilleure compréhension de nous-mêmes et, peut-être, un des moyens d'influer sur notre avenir.

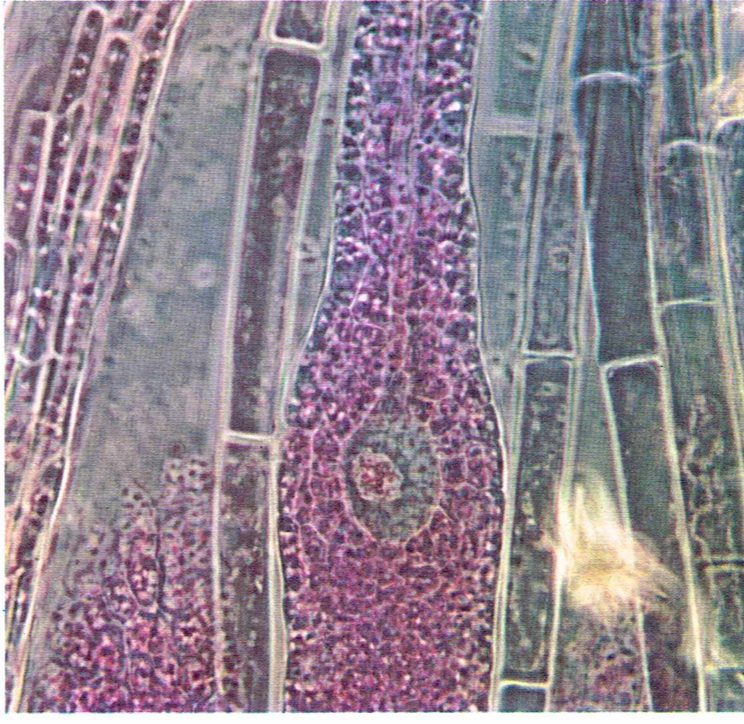
Les progrès de la génétique sont liés à l'avancement des autres branches scientifiques. Certains domaines, autrefois très éloignés des préoccupations des généticiens, comme la théorie de l'information, la psychologie ou l'étude du comportement, deviennent des sujets d'études et d'inspiration pour les chercheurs. En effet, la connaissance par l'homme de lui-même et du monde vivant nécessite le déploiement et l'intégration de tous les aspects des disciplines scientifiques, parmi lesquelles la génétique est une des fondamentales.

BIBLIOGRAPHIE

BEISSON J., *la Génétique*, P.U.F., 1971. - FINCHAM J.R.S. et DAY P.R., *Fungal Genetics*, Blackwell Scientific Publications, 3e éd., 1971. - HAYES W., *The Genetic of Bacteria and their Viruses*, Blackwell Scientific Publications, 2e éd., 1968. - JACOB F., *la Logique du vivant*, P.U.F., 1971. - LÉVINE R.P., *Génétique*, Édiscience, 1969. - MacKUSICK V.A., *Human Genetics*, Prentice Hall, 1969. - MacKUSICK V.A., *Mendelian Inheritance in Man: Catalogs of Autosomal Dominant, Autosomal Recessif and X Linked Phenotypes*, The John Hopkis Press, Baltimore, 1970. - MORIN E., *le Paradigme perdu; la Nature humaine*, Seuil, 1973. - TURPIN R. et LEJEUNE J., *les Chromosomes humains*, Gauthier-Villars, Paris, 1965. - WATSON J. D., *Biologie moléculaire du gène*, Inter European Éd., 2e éd., 1973.



G. Frezzato



G. Frezzato

▲ *A gauche,* **anthéridies** *d'un* **Mnium** *(Mousse) en section longitudinale montrant les anthérozoïdes ou gamètes mâles. A droite,* **archégone** *dans lequel on observe, au centre, la cellule œuf (oosphère) [observation en contraste de phase].*

EMBRYOLOGIE ET MORPHOLOGIE VÉGÉTALES

L'**embryologie** est l'étude du mode de réalisation de l'organisation d'un être vivant à partir du ou des germes grâce auxquels chaque individu se reproduit. Ces germes sont uni- ou pluricellulaires. Il s'agit avant tout de l'œuf formé lors de la reproduction sexuée.

L'embryologie est *descriptive* lorsqu'elle se contente de décrire les structures embryonnaires et les transformations qu'elles subissent pour donner celles de l'état adulte. Elle est alors *organographique*. Elle est *morphologique* si elle interprète les formations qu'elle trouve. Parfois, la simple observation des structures embryonnaires permet de comprendre leur signification morphologique, et par là celle des structures adultes qu'elles produisent. Mais cela est loin d'être général, et souvent les formes embryonnaires posent les mêmes problèmes morphologiques que les structures adultes.

L'embryologie est *physiologique* ou *causale* lorsqu'elle recherche, jusqu'au niveau moléculaire et submoléculaire, les causes des modifications qui interviennent lors du développement. Quand il s'agit de stades avancés du développement, elle prend souvent le nom de *morphogenèse*. Chez les plantes supérieures, cette dernière s'adresse le plus souvent au mode de réalisation des organes au niveau de la pousse formée après la germination plutôt qu'à celui de la plantule issue de l'œuf; toutefois, puisque à ce stade la plante n'a pas encore fleuri ou est en train de le faire, il s'agit bien encore d'embryologie (l'organisme, en effet, n'est complet que lors de la mise en place des organes reproducteurs).

La **morphologie** est, comme son nom l'indique, l'étude de la *forme* (morphê) de l'individu. Le terme est dû à Gœthe, qui expliquait bien pourtant que la forme dont il s'agit n'est pas simplement l'aspect statique qu'on peut constater en observant les végétaux (ou les animaux) isolés, mais la notion qui résulte de l'étude comparative de structures dont les aspects souvent divers ne doivent pas masquer la parenté. Une grappe de raisin, par exemple, est parfois appauvrie, « dégénérée » en vrille de vigne, et l'existence de ces intermédiaires montre que du point de vue de la morphologie pure, il y a une parenté entre les deux organes, alors que du point de vue descriptif, ou *organographique,* on les différencie radicalement.

La classification des plantes est encore fondée surtout sur l'organographie : on ne cherche pas à *comprendre* les formations qu'on *décrit*. Mais on voit que la morphologie pure est en fait très utile à la systématique car une certaine parenté entre taxons se révèle par la possession de structures *morphologiquement* comparables malgré leur diversité éventuelle d'aspect, tandis que l'identité physionomique, si elle ne se révèle pas morphologiquement fondée, ne marque qu'une convergence de peu d'intérêt pour l'établissement de la classification naturelle, et donc pour la reconstitution de la phylogénie.

Malheureusement, la morphologie est encore fort mal connue, et de plus, fort délaissée. Son étude au sens large impliquerait celle de l'*anatomie,* de l'*histologie* et de la *cytologie,* qui en sont séparées du fait d'une indispensable spécialisation, mais c'est l'ensemble de ces disciplines qui conduit à la connaissance de l'organisation et des rapports des éléments du corps, dont la *physiologie* (y compris la *biochimie dynamique,* la *biophysique,* l'*écologie,* etc.) précise le fonctionnement.

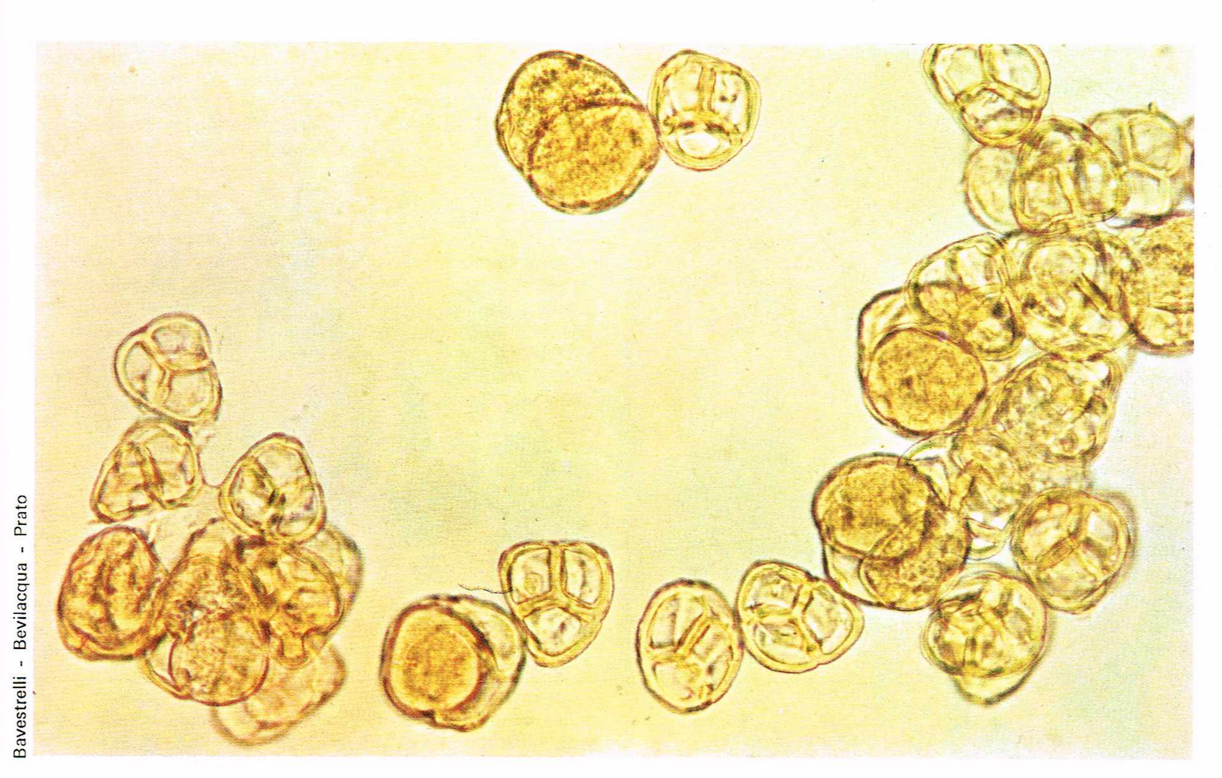
Embryologie végétale

Au sens large, l'embryologie est donc l'étude de la réalisation du germe, surtout de la cellule-œuf, puis du mode de formation du nouvel individu à partir de ce germe ou de cette cellule. Dans le cas d'une pousse de plante à fleur, l'embryologie traite du développement jusqu'à la floraison, qui marque la maturité sexuelle de la pousse : c'est cet allongement du développement qu'on exprime avec exagération en parlant d'*embryogenèse indéfinie* du végétal.

Dans la reproduction végétative, une plante provient d'une ou de plusieurs cellules végétatives de la plante mère, sans intervention d'aucun phénomène sexuel. Il s'agit de l'apparition de bourgeons adventifs qui se forment constamment, de façon accidentelle, ou encore expérimentale. Ceux-ci engendrent à leur tour des racines adventives, qui peuvent aussi apparaître parallèlement à eux, au même endroit, et même avant eux. La plante fille se développe parfois de manière très analogue à un embryon issu de l'œuf, mais elle est largement continue avec le tissu générateur par son pôle inférieur et ne présente ni radicule embryonnaire vraie ni suspenseur. Les *embryoïdes* obtenus expérimentalement à partir de nombreux tissus et organes sont de ce type (Haccius).

L'embryon vrai provient d'un œuf formé par fécondation. Il y a néanmoins des exceptions : il existe des cas où le gamète femelle n'a pas besoin de fécondation pour se développer *(parthénogenèse)*. Des cellules ovulaires diploïdes, du nucelle surtout, peuvent aussi donner des


◀ **Tétrades polliniques** ***d'un rhododendron.***


Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

embryoïdes *(Citrus)*. Dans ces cas, la reproduction se fait sans recombinaison génique (le second cas appartient en fait à la reproduction végétative).

Depuis quelques années, on sait obtenir des plantes entières (sporophytes) à partir de jeunes grains de pollen, contenus dans les anthères ou même isolés. Comme ces grains n'ont pas encore formé leurs gamètes au moment où ils peuvent se développer, il ne semble pas qu'il s'agisse d'*androgenèse* (développement comme un œuf du gamète mâle ou du moins d'une cellule dont il fournit le noyau), mais plutôt d'*apogamie*, c'est-à-dire de la formation d'un sporophyte à partir d'une cellule non gamétique du gamétophyte, ici mâle.

Formation des gamètes

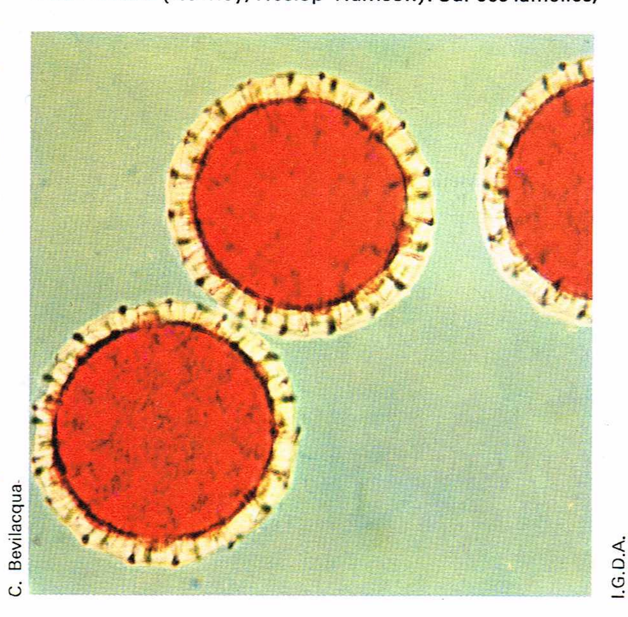
Le **gamète mâle** des Angiospermes, auxquelles nous nous limitons, se forme à partir d'un gamétophyte extrêmement réduit, qui demeure enclos dans la spore qui le produit. Les spores sont les grains de pollen qui sont formés dans les quatre bandes marginales des deux limbes de l'étamine diplophylle; ces bandes se creusent en sacs polliniques remplis de pollen à la fin du processus.

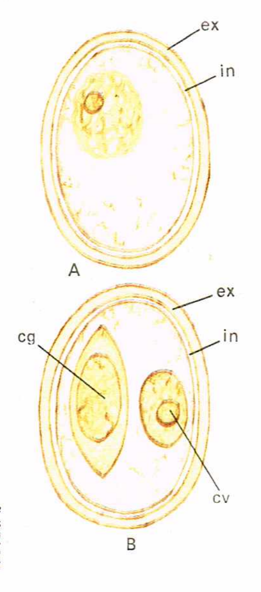
A partir de cellules sous-épidermiques de la jeune anthère se forme une assise qui restera sous-épidermique et dont les cellules se garniront d'épaississements lignifiés, quelques assises intermédiaires, dont la plus interne est le *tapis* formé de cellules modifiées qui nourriront les spores en formation, et enfin, les cellules mères de ces spores. Du côté central, des cellules profondes du tissu de l'anthère forment des couches correspondantes, de sorte qu'on obtient quatre masses de cellules mères encloses d'une paroi différenciée. Il ne s'agit pas, comme on le dit souvent, de microsporanges, mais de *synanges :* plusieurs sporanges successifs sont unis en un seul sac pollinique, comme le révèle le fait qu'à partir de celui-ci, de nombreux ovules peuvent se développer dans les cas tératologiques (Molliard, Guédès). Or, chaque ovule est lui-même un sporange.

Les cellules mères subissent toutes ensembles la réduction chromatique. Elles forment alors des tétrades entourées d'épaisses membranes de callose, et communiquent entre elles par de larges orifices, ce qui aide peut-être à leur synchronisation. Dans l'ensemble, il y a chez les Monocotylédones formation d'une paroi dès la fin de la première mitose de la méiose, tandis que chez les Dicotylédones la première division n'est pas suivie de la formation de paroi, et c'est seulement après la seconde division que les quatre éléments de la tétrade se séparent. Dans le premier cas, la formation du pollen est *successive*, dans le second elle est *simultanée*. On a constaté au microscope électronique que dans la formation simultanée la première division s'accompagne d'une tentative de formation de membrane, laquelle n'aboutit pas (Dietrich). Peut-être cela indique-t-il que le mode successif est primitif.

Les tétrades demeurent rarement formées; en général, les cellules haploïdes, qui sont des spores, se séparent les unes des autres et forment des grains de pollen libres dans le sac pollinique. Les deux sacs polliniques d'une moitié d'anthère confluent par disparition de leur cloison de séparation en une *loge pollinique*, ou thèque, qui s'ouvre par une fente longitudinale au niveau de l'ancien contact de la cloison disparue avec la paroi externe. Les épaississements lignifiés de l'assise sous-épidermique *(endothecium)* jouent un rôle mécanique dans l'ouverture de cette fente. Celle-ci peut ne se faire qu'en haut ou en bas, sous forme de pore, disposition plus évoluée.

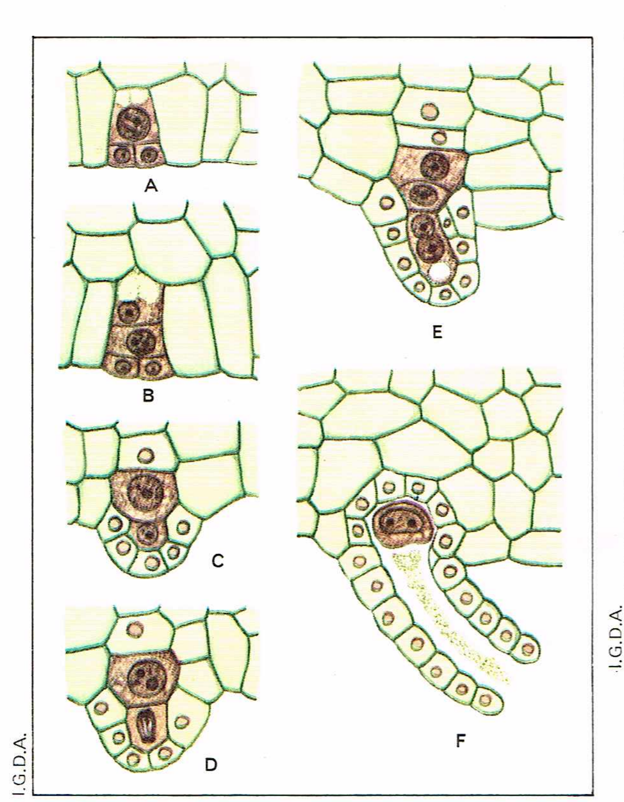
Pendant qu'ils étaient encore unis en tétrade et entourés de callose, les grains de pollen ont formé une paroi très résistante, ou *exine*, faite de sporopollénine. En dessous de celle-ci, ils formeront leur paroi cellulosique banale, ou *intine*. L'exine se constitue autour de lamelles analogues à la membrane cytoplasmique et délaminées à son niveau (Rowley, Heslop-Harrison). Sur ces lamelles,

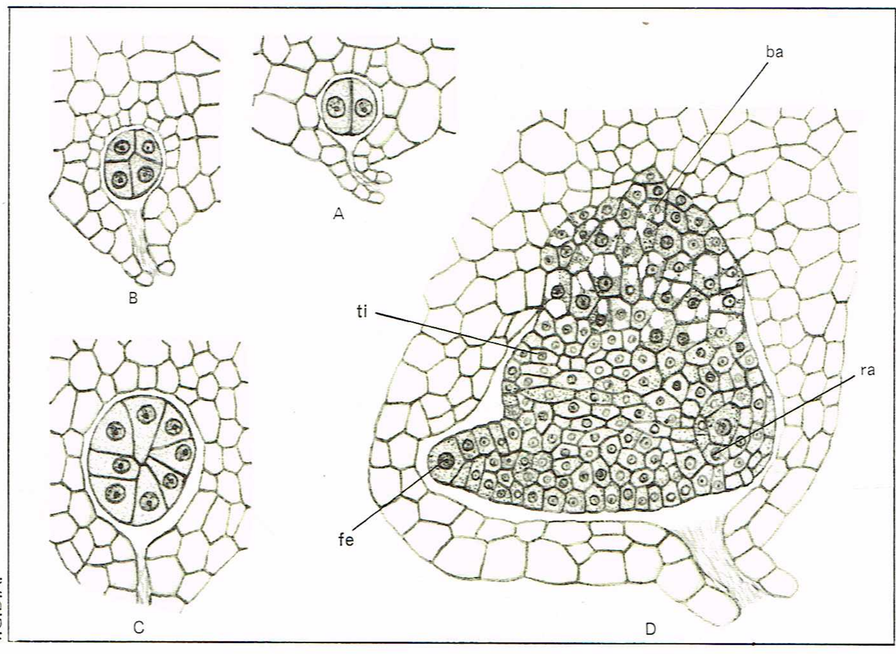

C. Bevilacqua



I.G.D.A.

▼ ***A gauche,*** **grains de pollen** ***d'une Dicotylédone*** **(Cobaea scandens).** ***A droite, exemple de grains de pollen de lis martagon*** **(Lilium martagon),** ***en section longitudinale : A, grain non mûr (microspore); B, le même, mûr, après avoir subi la division en cellule générative (cg) et en cellule végétative (cv); ex, exine; in, intine.***



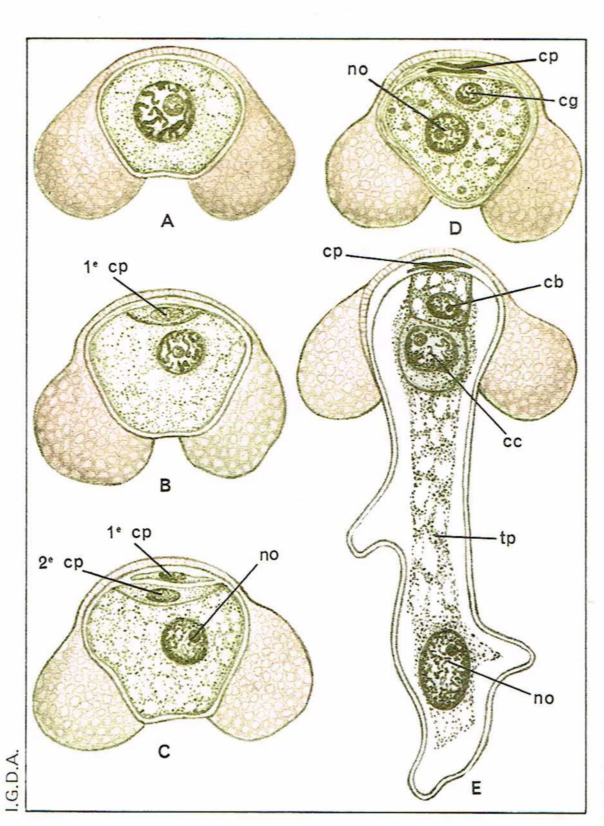


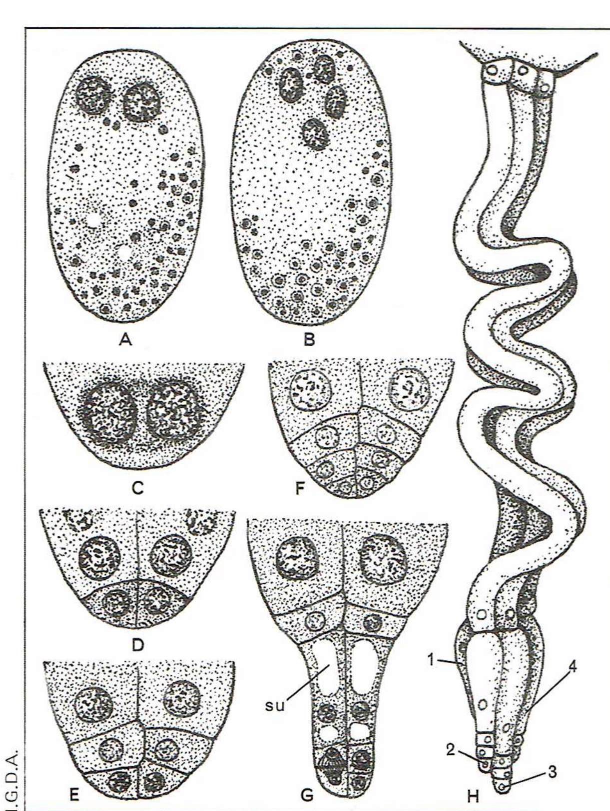
Ci-dessus, stade de développement de l'embryon d'une Fougère (Polypodiacées) : A, stade bicellulaire, la première division est longitudinale; B, stade à quatre cellules; C, stade ultérieur plus développé; D, embryon dans lequel on note déjà la différenciation des organes; ba, portion basale ou pied; ra, racines; ti, tige; fe, feuille et sa cellule initiale.

▲ *Ci-dessus, formation d'un archégone de* Dryopteris sp. *A, division initiale d'une cellule externe en deux autres cellules; la cellule externe se divise à son tour pour former les cellules du col; B, formation des cellules centrale et basale par division de la cellule interne; C, division des cellules de la paroi du col; D, division du noyau de la cellule centrale, non suivie de la formation d'une membrane → la cellule reste binucléée (cellule de canal du col); E, archégone presque mûr : la cellule basale s'est divisée en oosphère (cellule œuf) et cellule du canal du ventre; F, archégone avec la cellule œuf, ou oosphère, prête à être fécondée.*

▼ *En bas, à gauche, développement du grain de pollen (gamétophyte mâle) de* Pinus nigra*; A, jeune microspore; B-E, formation du grain de pollen et développement du tube pollinique (tp); B-C, formation des 2 cellules prothalliennes (cp) à partir de la cellule de la microspore dont le noyau est noté (n); D, formation de la cellule générative (cg), par division du noyau de la microspore. L'autre noyau fils (no) sera celui du tube pollinique (noyau végétatif); E, la cellule générative se divise en cellule basale (cell. socle) [cb] et cellule spermatogène (cellule du corps) [cc]. Cette dernière se divisera elle-même en deux gamètes mâles.*

A droite, début du développement de l'embryon chez Pinus monophylla*; A, proembryon binucléé; B, stade à 4 noyaux; C, 2 des 4 noyaux sont à la base de l'œuf; D, proembryon à 8 cellules (4 sont visibles, début de clivage); E et F, stades encore plus avancés (clivage en cellules, sauf pour l'étage supérieur); G, les cellules formant le suspenseur (su) s'allongent vers le bas; H, stade de développement plus avancé (chez* Pinus banksiana*) : les 4 rangées longitudinales de cellules (1-4) se séparent et forment chacune un embryon (polyembryonnie). Noter qu'un second « étage » de suspenseur s'est formé par allongement de 4 cellules parallèles.*





se dépose la sporopollénine, qui provient probablement du cytoplasme du grain, avec intervention possible des mitochondries. Les cellules du tapis peuvent aussi former de la sporopollénine. La disposition en lamelles disparaît le plus souvent dans le grain de pollen achevé, mais peut subsister dans la région inférieure de l'exine (Aracées, Annonacées [Le Thomas]) et au voisinage des dépressions, ou *apertures,* par où sortira le tube pollinique. La sporopollénine peut être déposée de façon continue sur les lamelles ou bien sous forme de grains, encore visibles à l'état définitif (Van Campo). Dans la disposition finale, l'exine comporte en général une couche inférieure porteuse de colonnettes rayonnantes dont les extrémités, renflées, sont souvent unies en un toit diversement ornementé. Cette structure est curieusement comparable à celles de l'exine de certaines basidiospores, elle aussi faite de sporopollénine.

Le noyau haploïde de la spore se divise au moins une fois avant la libération du grain. Il y a formation de deux cellules, munies de leur paroi squelettique, dont l'une est la mère des gamètes mâles. La division de cette dernière en deux cellules gamétiques se fait aussi chez beaucoup de plantes avant la libération du grain, et cet état trinucléé semble plus évolué. Le gamétophyte mâle est réduit à la cellule stérile du grain et aux deux gamètes ou à leur cellule mère. Il est renfermé dans la paroi de la spore, comme l'était déjà chez les Ptéridophytes le gamétophyte mâle des *Isoetes* et sélaginelles, qui possède une seule cellule prothallienne, mais forme cependant une anthéridie productrice de nombreux anthérozoïdes. La cellule stérile du grain de pollen correspond peut-être en fait à la paroi d'une anthéridie (Favre-Duchartre).

L'exine possède des zones amincies et simplifiées *(apertures)* par où pourra se faire la germination du grain. Dans les cas les plus primitifs, il s'agit d'un sillon situé du côté distal du grain, supposé lié à ses trois frères dans la tétrade, tandis que des fentes correspondantes sont situées du côté proximal chez les Ptéridophytes. Il semble qu'au cours de l'évolution, sont apparus ensuite des grains à trois fentes ovoïdes *(colpus),* puis à trois pores, puis à apertures plus nombreuses encore. Une seule aperture est fonctionnelle. L'étude du pollen est la *palynologie*.

Le **gamète femelle** des Angiospermes est membre d'un ensemble très problématique de cellules haploïdes abritées par le nucelle de l'ovule. Lorsque celui-ci a un volumineux nucelle, il est dit *crassinucellé;* lorsqu'il a un nucelle réduit, il est dit *ténuinucellé* (ce qui représente une disposition plus évoluée).

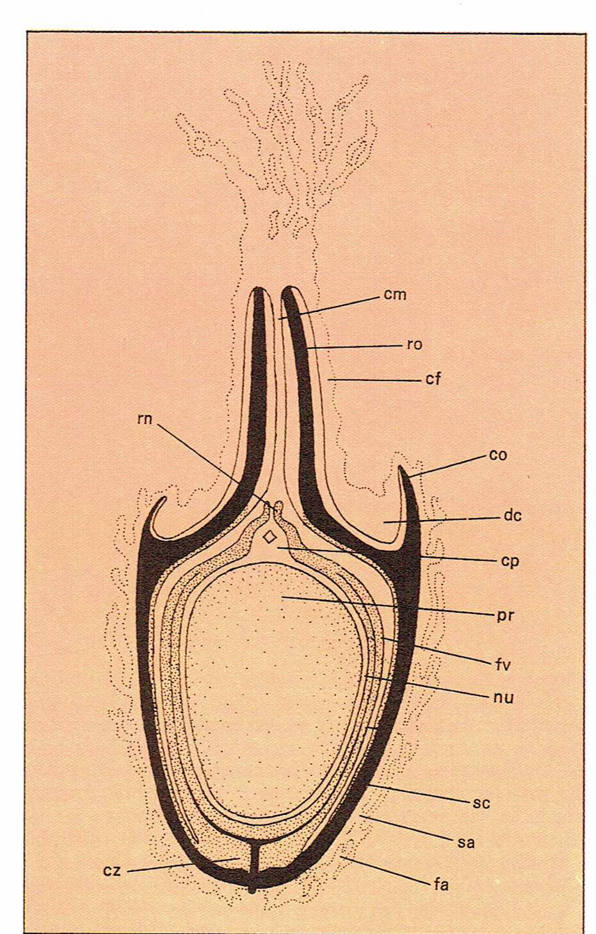
Le nucelle est diploïde. Une cellule sous-épidermique particulière, ou archéspore, va subir la réduction chromatique soit immédiatement, si l'ovule est ténuinucellé, soit après avoir produit des cellules filles formant un *tissu pariétal,* ou *calotte,* qui la sépare de l'épiderme, si l'ovule est crassinucellé.

Il arrive aussi qu'il y ait plusieurs archéspores dont souvent une seule est fonctionnelle (mais parfois aussi plusieurs).

La cellule qui subit la réduction chromatique donne quatre spores haploïdes femelles (mégaspores) dont l'une, en général la plus éloignée de l'épiderme, va poursuivre sur place son évolution pour donner le gamétophyte femelle, ou *sac embryonnaire,* qui est dit alors *monosporique*. Mais il arrive que deux noyaux haploïdes demeurent dans la même cellule issue de la première division méiotique et forment un sac embryonnaire *bisporique* (issu de deux mégaspores), ou bien que les quatre noyaux haploïdes formés demeurent dans une même cellule, qui est à l'origine d'un sac *tétrasporique*.

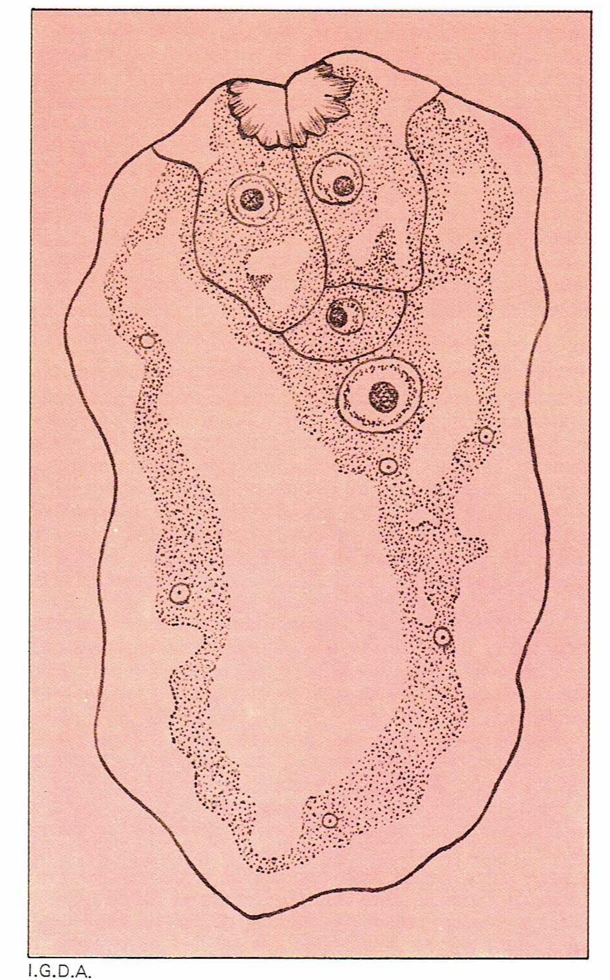
Pendant que se produit la méiose, il peut apparaître de la callose autour de la cellule mère puis de la tétrade, et entre les mégaspores, comme dans le cas du pollen (Rodkiewicz, Jalouzot). Cela est sans doute une réminiscence d'un état ancien où les mégaspores formaient elles aussi une paroi de sporopollénine à l'abri d'une coque callosique. Effectivement, chez les Gymnospermes, il se forme encore une épaisse paroi autour de la mégaspore puis de l'endosperme haploïde qu'elle forme sur place. Cette paroi comporte une exine fort comparable à celle d'un grain de pollen (von Lürzer, De Sloover).

Le sac embryonnaire n'est pas un véritable sac : il n'a pas de paroi propre, sauf peut-être quelques restes de celle de la mégaspore, et n'est pas limité par une



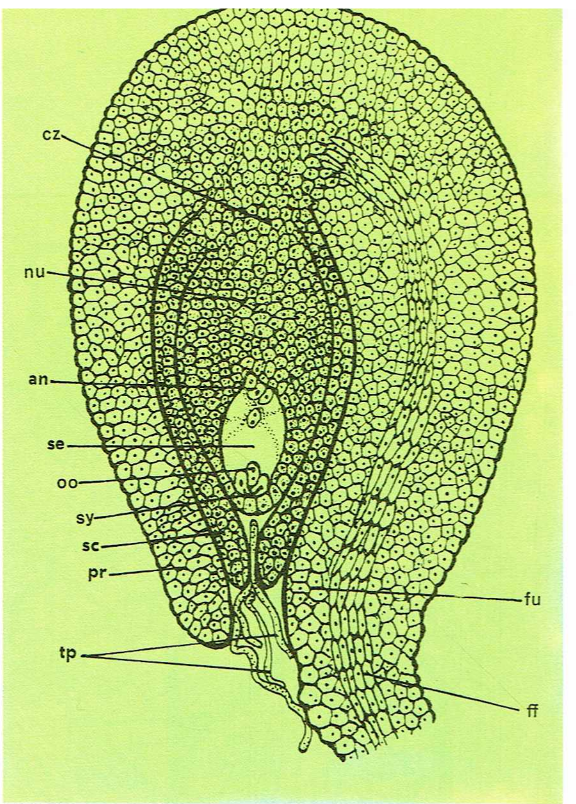
I.G.D.A.

◀ *Section longitudinale d'un ovule de* **Stephanospernum elongatum** *(Ptéridospermée fossile); cm, canal micropylaire; ro, rostre; cf, couche fibreuse externe; co, coronule; dc, dépression circulaire; cp, chambre pollinique; pr, prothalle femelle (endosperme); fv, faisceau vasculaire; nu, nucelle; sc, sclérotesta; sa, sarcotesta; fa, faisceau vasculaire du sarcotesta; cz, chalaze; rn, rostre nucellaire.*


I.G.D.A.

◀ *Sac embryonnaire mûr d'***Oenothera nutans,** *à 4 cellules, montrant les synergides avec l'appareil filiforme. On observe que les synergides possèdent une vacuole près de l'extrémité inférieure. Le sac est monosporique mais ne comporte ici que 4 cellules.*

▶ *A gauche, représentation schématique d'un ovule de type anatrope d'Angiosperme Monocotylédone en section longitudinale : cz, chalaze; nu, nucelle; an, antipodes; se, sac embryonnaire; oo, oosphère; sy, synergides; sc, secondine; pr, primine; tp, tubes polliniques; fu, funicule; ff, funicule du faisceau. A droite, section longitudinale médiane dans un ovule de* **Lilium sp.** *Formation du sac embryonnaire. Première division nucléaire de la méiose de la cellule mère (archéspore). Le sac embryonnaire est tétrasporique.*



I.G.D.A.



Bavestrelli - Bevilacqua - Prato

membrane cytoplasmique unique. En effet, la mégaspore fonctionnelle se divise en deux cellules, lesquelles se divisent à leur tour en quatre, dont trois se divisent encore pour en former six, tandis que la quatrième, la cellule centrale, grandit et divise seulement son noyau. Il apparaît ainsi sept cellules, avec au total huit noyaux, séparées les unes des autres mais rapprochées en un ensemble logé dans une cavité du nucelle. Cet ensemble constitue le sac embryonnaire. Les modalités de sa réalisation sont variées dans le cas des sacs bi- ou tétrasporiques; le résultat final peut alors être le même, mais il peut aussi y avoir seize noyaux, ou, au contraire, seulement quatre.

La cellule centrale, ovoïde, est la plus volumineuse; sa paroi constitue en pratique celle du sac. C'est dans les invaginations de cette cellule centrale que sont logées les autres cellules. Trois sont situées du côté micropylaire : l'une d'elles est le gamète femelle, ou *oosphère,* et les deux autres sont les *synergides.* Trois autres sont localisées du côté chalazien : ce sont les *antipodes,* qui prolifèrent parfois, mais dégénèrent en général. Les deux noyaux de la cellule centrale fusionnent en un *noyau polaire,* diploïde. Les cellules du nucelle sont parfois différenciées de façon particulière autour du sac.

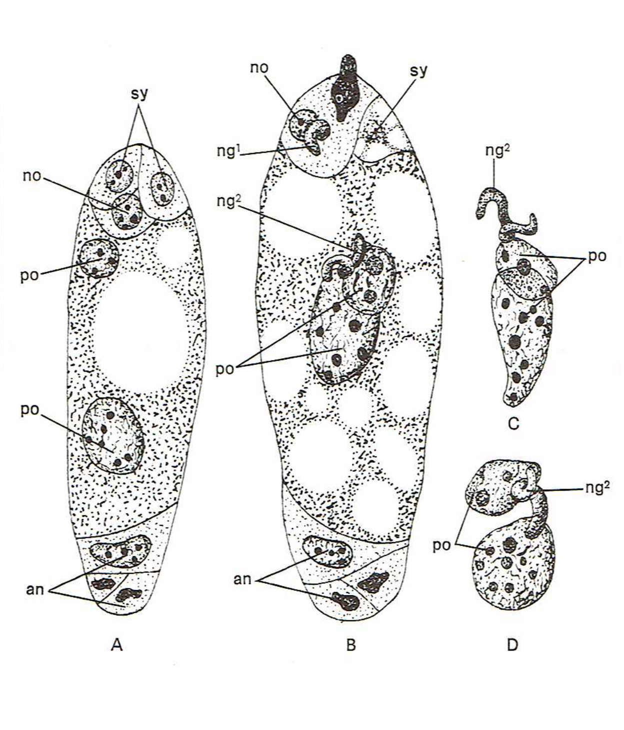
Ce sac embryonnaire correspond à l'endosperme haploïde des Gymnospermes, mais il est très difficile d'y reconnaître des archégones.

La fécondation

Chez les Angiospermes, comme chez la grande majorité des Gymnospermes actuelles, il y a *siphonogamie.* Le grain de pollen apporté sur le stigmate du pistil y « germe » : en présence de sécrétion sucrée, il allonge localement sa paroi cellulosique en un *tube pollinique* qui fait protrusion par une des apertures de l'exine, et, guidé et nourri par le *tissu conducteur* du style puis des placentas de l'ovaire, il atteint les ovules. La production de ce tube nécessite un anabolisme intense, et la pénétration dans le tube de glucides du stigmate et du tissu conducteur a été mise en évidence par l'emploi d'isotopes radioactifs. Des phénomènes chimiotactiques sont probablement en cause dans l'attraction du tube vers les ovules. Il arrive, d'ailleurs, si le style est creux, que le pollen y pénètre. On peut aussi déposer le pollen au niveau des ovules et l'y faire germer. On évite ainsi l'inhibition de la germination du pollen par le stigmate, qui a lieu dans certaines espèces *auto-incompatibles,* c'est-à-dire où un individu ne peut se féconder lui-même, ou entre espèces voisines.

Les cellules gamétiques mâles sont alors formées, si elles ne l'étaient déjà, et la pointe du tube pénètre en général par le micropyle de l'ovule *(porogamie),* mais parfois aussi par le pôle opposé du nucelle après avoir cheminé dans le tissu des téguments et de ce nucelle, c'est la *chalazogamie* (la chalaze de l'ovule est l'extrémité opposée au micropyle, par où les téguments, le nucelle, et le funicule ou le raphé sont en continuité). Dans le cas de la chalazogamie, le tube remonte d'ailleurs encore au niveau micropylaire avant d'effectuer la fécondation. Les détails de celle-ci sont encore à l'étude. L'un des noyaux des gamètes mâles fusionne avec celui de l'oosphère, l'autre avec le noyau devenu diploïde de la cellule centrale. D'après Jensen, qui a étudié particulièrement la capselle et le cotonnier, le tube pollinique se décharge par un pore subapical à l'intérieur de l'une des synergides qui a commencé à dégénérer et où il a pénétré à travers sa paroi micropylaire, particulièrement tourmentée et épaissie par la production d'hémicelluloses *(appareil filiforme).* Les deux gamètes mâles baignent dans le cytoplasme de la synergide, de même que le noyau végétatif du grain, arrivé lui aussi jusque-là et qui dégénère. La synergide voit sa membrane cytoplasmique dégénérer aussi, et celles des gamètes fusionnent alors respectivement avec celles de l'oosphère et de la cellule centrale. Les noyaux mâles peuvent maintenant s'unir à leurs partenaires.

▶ *Gamétophyte femelle adulte de* **Lilium martagon** *et sa fécondation; A, sac embryonnaire avant sa fécondation; B, durant la fécondation : un des noyaux reproducteurs, appartenant à l'un des gamètes mâles s'unit à l'oosphère, et le second aux deux noyaux polaires; C, D, deux stades de la fusion du noyau reproducteur avec les noyaux polaires; sy, synergides; no, noyau de l'oosphère; po, noyaux polaires; an, antipodes;* ng_1 *et* ng_2*, noyaux du 1er et du 2e gamète mâle (noyaux reproducteurs).*



I.G.D.A.

L'œuf résulte de l'union de l'oosphère et de l'un des gamètes mâles. Son noyau est diploïde. La cellule centrale acquiert par fécondation un noyau triploïde; elle sera à l'origine de l'*albumen*, tissu triploïde qui sera plus ou moins digéré par l'embryon au cours de sa formation. Des cultures *in vitro* d'albumen sont pourtant possibles et peuvent donner des bourgeons qui deviennent des pousses triploïdes. L'albumen, tissu nourricier de la graine, se développe ici après la fécondation, tandis que l'endosperme haploïde des Gymnospermes, qui lui correspond physiologiquement, apparaît avant celle-ci.

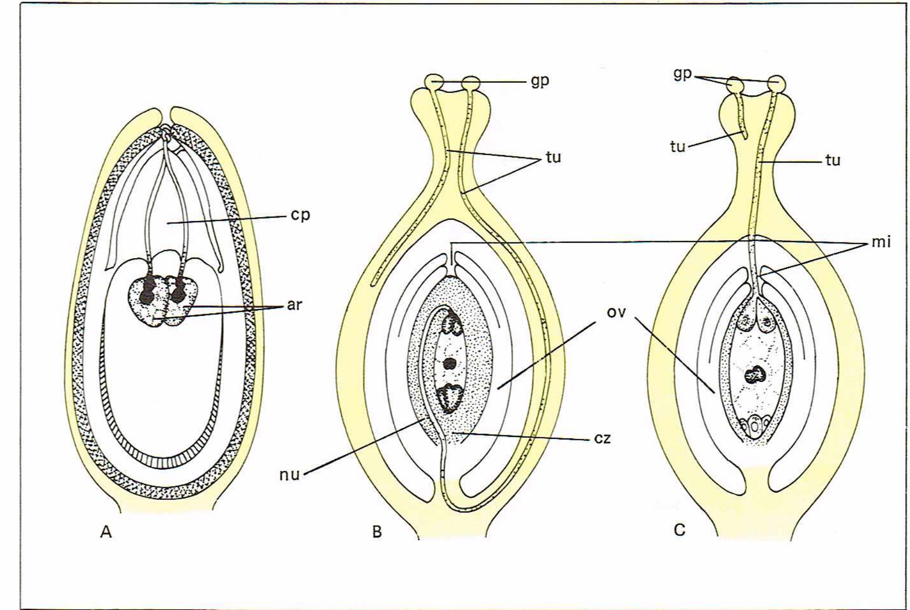
L'activation de l'ovaire et la formation de la graine

Après la pollinisation, mais déjà avant la fécondation (ou indépendamment s'il y a parthénogenèse ou parthénocarpie), l'ovaire entame un nouveau développement, souvent très important, et devient un fruit, tandis que les ovules donnent des graines (dans le cas général). Des remaniements histologiques importants accompagnent les deux processus. La paroi de l'ovaire peut différencier des assises sclérifiées qui, lorsqu'elles auront un rôle mécanique, permettront la déhiscence du fruit suivant des lignes de moindre résistance déjà préparées dans l'ovaire. Dans certaines capsules loculicides, une telle ligne coupe en deux le faisceau médian des carpelles, dont le métaxylème a la forme de deux ailes : c'est entre celles-ci que se fera la déhiscence (tulipe). Le noyau et les couches pulpeuses des drupes apparaissent alors, le noyau étant déjà préparé dans l'ovaire. Les téguments de l'ovule forment en général deux téguments à la graine, mais leur origine est variable et tous les deux peuvent provenir du même tégument ovulaire. Ce sont souvent des restes de parois épaissies et des cuticules. En général, le tégument externe de la graine est épais et résistant, au point de rendre parfois la germination très difficile. Il peut être extérieurement mucilagineux.

Si la pollinisation détermine déjà, dans le cas du pétunia étudié par Linskens, une augmentation du contenu relatif en ARN et en protéines, celui-ci baisse ensuite pour s'élever brusquement quelques heures après la fécondation laquelle intervient un jour et demi plus tard, durée de la progression des tubes polliniques jusqu'aux ovules. Puis ce contenu baisse de nouveau pendant encore un jour et demi pour s'élever assez lentement, dans les dix jours qui suivent, sans atteindre toutefois le niveau de l'ovaire vierge. C'est après la fécondation que commence le grand afflux d'eau dans l'ovaire. Il est général; dans certains cas, on voit des plantes mal alimentées en eau se flétrir pour pourvoir aux besoins de leurs fruits (cotonnier). Il y a aussi fourniture d'autres métabolites. Chez les pétunias, la synthèse protéique semble s'accélérer dès avant la fécondation, comme on peut le voir en mesurant l'incorporation d'acides aminés radioactifs. Elle commence à baisser au moment de la fécondation, et, une semaine après la pollinisation, elle est revenue à l'état où elle se trouvait dans l'ovaire non pollinisé. Mais cette dépression n'a pas lieu dans le placenta et les ovules, où l'augmentation se poursuit alors à ce moment.

Plus précisément, Linskens a trouvé que les polysomes (groupes de ribosomes attachés à l'ARN messager qu'ils sont en train d'utiliser) augmentent de nombre et de taille dans les placentas deux à trois jours après la pollinisation, donc un peu après le moment de l'accroissement de la quantité relative d'ARN. Cette augmentation n'est déjà plus manifeste un jour plus tard, le moment de l'activation étant passé.

Ces modifications biochimiques sont elles-mêmes dues à des stimuli hormonaux. Le pollen apporte des auxines, ce qui explique sans doute qu'il produise son effet avant même la fécondation. Ainsi, une application de pollen étranger non fécondant peut parfois entraîner un début de maturation de l'ovaire. De même l'administration d'auxines ou de gibbérellines induit la *parthénocarpie*, ou développement du fruit sans fécondation et sans formation de graines vraies. Dans des variétés spontanément parthénocarpiques, on constate que le contenu en auxines de l'ovaire est augmenté, indépendamment de toute pollinisation ou fécondation, et sans qu'il se forme de graines par parthénogenèse. L'albumen des graines en développement produit à son tour des auxines, puis l'embryon prend le relais. La croissance des fruits nécessite, au moins au début, la présence des graines, et l'avortement ou l'ablation de celles-ci dans une partie du fruit conduit à un développement dissymétrique (Luckwill, Rosper). Les akènes du fraisier sont aussi responsables de la croissance du réceptacle, et leur absence sur une partie de celui-ci conduit à la non-accrescence de la zone correspondante (Nitsch).

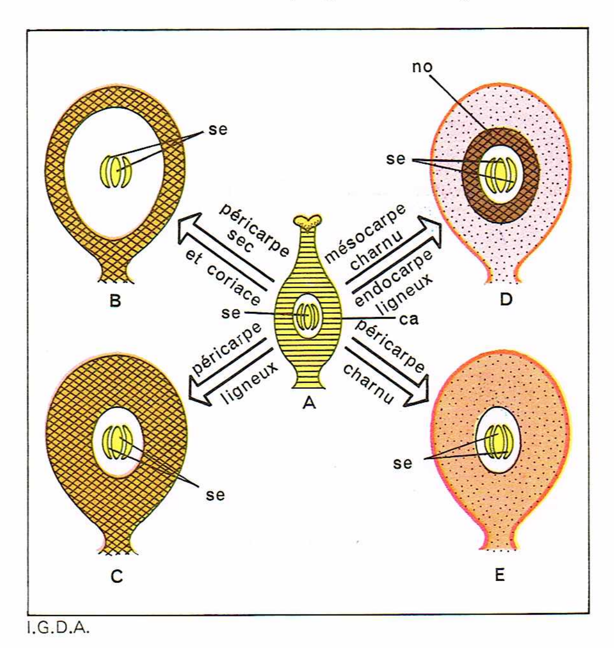


I.G.D.A.

▲ *Représentation schématique du parcours du tube pollinique dans le processus de fécondation; A, de Conifère; B, d'une Angiosperme avec chalazogamie; C, d'une Angiosperme avec porogamie; cp, chambre pollinique; ar, deux archégones; gp, grains de pollen; tu, tube pollinique; mi, micropyle; ov, ovule orthotrope; cz, chalaze; nu, nucelle. Dans la chalazogamie (B), la pointe du tube pollinique pénètre par la chalaze, précisément; dans la porogamie, le tube pénètre par le micropyle de l'ovule.*

Le développement de l'embryon

Ce développement est connu, chez les Angiospermes, grâce surtout aux travaux de R. Souèges. La première division de l'œuf, transversale, donne une cellule apicale, du côté du micropyle, et une cellule basale. Ensuite, chaque cellule se divise en deux transversalement, longitudinalement ou obliquement. Bien que le mode de leur division soit le plus souvent constant, il peut être variable dans une espèce donnée; il en est de même de l'orientation des divisions suivantes, au point que chez *Datura stramonium*, il n'est possible de prévoir le mode de division d'aucune cellule du jeune embryon de huit cellules. Pourtant, la forme de l'embryon est toujours définie. En effet, malgré le caractère anarchique de leurs divisions, les cellules gardent entre elles des corrélations morphogénétiques précises qui permettent le développement de la radicule, des cotylédons et du point végétatif. Dans ces conditions, il est légitime de s'attacher avant tout à préciser l'intensité et la localisation des zones de croissance qui permettent la réalisation de l'embryon, sans décrire le devenir des cellules individuelles (Bugnon, Vallade).



I.G.D.A.

◀ *Représentation schématique des diverses possibilités de transformation de l'ovaire en fruit; A, ovaire après la fécondation; les flèches indiquent les transformations possibles des parois carpellaires (ca) en fruits de structure et de consistance particulières. Ainsi, s'il y a lignification (en beige), on obtient en B un fruit sec, coriace : akène s'il est indéhiscent, follicule ou capsule s'il est déhiscent; en C, une noix; si le parenchyme périphérique devient, seul, juteux et charnu (en rosé pointillé), on obtient en D la drupe à noyaux ligneux (no); si tout le parenchyme devient charnu comme en E, il se forme une baie. Les graines sont notées (se).*



▲ *Derniers stades du développement de l'embryon de* Capsella bursa-pastoris. *Noter la volumineuse cellule supérieure du suspenseur; l'embryon se courbe durant sa formation : sa radicule est appuyée sur la surface d'un des cotylédons; il est* incombant.

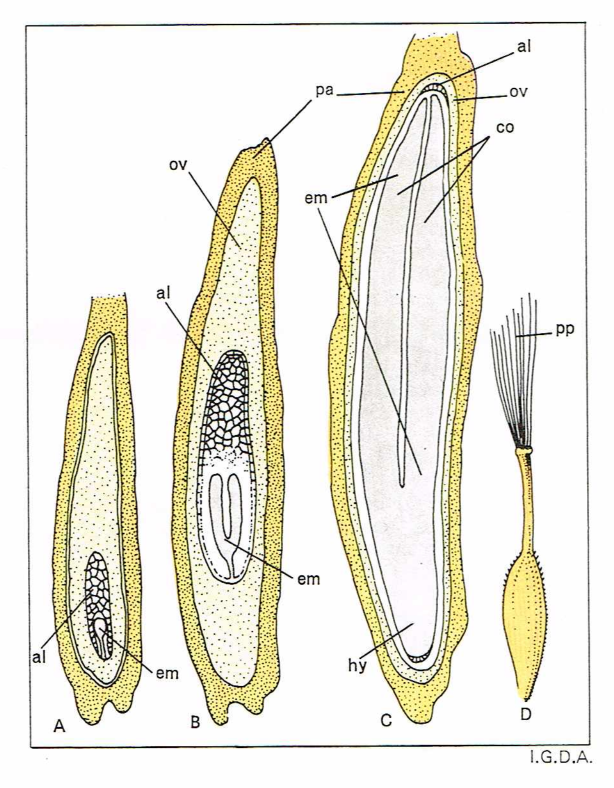
Cependant, dans la grande majorité des cas, le mode de division des cellules embryonnaires ou blastomères, même variable, n'est pas anarchique. Mestre a fait remarquer, à ce sujet, que de toute manière, dans une espèce donnée, l'origine des points végétatifs de la tige et de la racine se fait constamment à partir de la cellule apicale ou basale, quelle que soit la variabilité du cloisonnement de celle-ci. De cette manière, on peut distinguer des plantes où la cellule basale ne prend pas part à la formation de l'embryon proprement dit. Cette cellule ne forme que le *suspenseur* filamenteux, qui dégénérera, après avoir servi peut-être à nourrir l'embryon. On voit que chez les plantes, comme chez les animaux, l'œuf peut produire des formations extra-embryonnaires. Ce type est celui de certaines Papavéracées, des Solanacées, des Rubiacées, des Cypéracées et, en général, des familles évoluées.

Chez les Crucifères, mais aussi les Labiées et les Scrofulariacées, la cellule apicale donne le point végétatif de la tige, et la cellule basale fournit, en plus du suspenseur, l'apex de la racine. Plus précisément, la cellule apicale forme, dans ces cas, tout l'hypocotyle, tandis que dans d'autres elles n'en donne qu'une partie plus ou moins importante, comme chez les Composées, les Polygonacées les Chénopodiacées ou les Graminées. De plus, il arrive souvent que la cellule basale ne forme que le suspenseur et que la cellule apicale se comporte comme un œuf et se divise transversalement en deux cellules descendantes. Leur développement obéit alors aux lois précédentes : la cellule « basale secondaire » prend part ou non à la formation de l'embryon. C'est ce qui se voit chez les Campanulacées, les Caryophyllacées et les Primulacées, ainsi que chez certaines Papavéracées et Fumariacées. Le cas des Papavéracées montre qu'il peut exister, dans la même famille, identité entre le développement de l'œuf et celui de la cellule apicale qui en résulte. Ce phénomène rappelle la correspondance qui existe souvent entre une foliole et une feuille entière. Les mêmes gènes doivent être mis en cause pour les former, mais à des moments et en des endroits différents. C'est le phénomène d'*homéose* (Leavitt, Gavaudan).

D'ailleurs, il se peut que les types précédents s'appliquent non plus à une cellule fille de l'œuf, mais à une petite-fille, et même à une arrière-petite-fille (Fumariacées, Papavéracées, Papilionacées). La masse extra-embryonnaire issue de l'œuf est ainsi plus importante. Des phénomènes du même genre peuvent être observés chez les Gymnospermes.

Après avoir subi le début de son développement, l'embryon entre le plus souvent en vie latente et se déshydrate. Chez les Dicotylédones, l'embryon possède alors en général ses deux cotylédons seulement, mais il peut avoir formé quelques feuilles (haricot). L'albumen a été ou non épuisé pendant cette première phase, et la graine est devenue *exalbuminée* ou est restée *albuminée*. Cette graine peut demeurer latente très longtemps, jusqu'à 1 700 ans pour un chénopode et une espargoutte (Ødum) ; mais des durées de quelques décennies, quelques années ou même quelques mois sont plus fréquentes. Le développement peut aussi se poursuivre immédiatement, pendant que la graine est encore dans le fruit (c'est la *viviparie*, qu'on observe chez les palétuviers). En général, l'état latent de l'embryon protégé par les téguments de sa graine lui procure une résistance aux agressions externes pendant la dissémination de la graine, du noyau ou du fruit sec. Lorsqu'elle rencontre des conditions favorables, la graine germe, mais la protection physique (téguments) et chimique (inhibiteurs de croissance) dont bénéficiait l'embryon constitue souvent un obstacle à la germination qui doit être levé par l'action du froid, de la lumière ou, dans le cas d'un tégument qui empêche la respiration et l'expansion de la plantule, par l'atteinte mécanique ou physico-chimique.

La germination marque la reprise du développement embryonnaire et manifeste la métamérie du végétal par la réalisation de la pousse feuillée, que nous décrirons maintenant.



▶ *Représentation schématique du développement de l'embryon et du fruit chez* Lactuca sativa *(section longitudinale); A, ovule avec l'embryon (em) en voie de développement et l'albumen (al); B, C, phases ultérieures de l'évolution de l'embryon et de l'albumen ainsi que du tégument ovulaire (ov) devenant tégument séminal. Apparition des cotylédons (co); pa, parois du fruit. En C, on observe la réduction progressive de l'albumen à la région antipodale et la différenciation de l'hypocotyle (hy); en D, l'akène mûr présente un pappus (pp) qui en facilitera la dissémination.*

BIBLIOGRAPHIE

ERDTMAN G., *Handbook of Palynology,* Copenhague, 1969. - FAVRE-DUCHARTRE M., *Des ovules aux graines,* Paris, 1970. - *From Ovule to Seed* [Symposium], *Caryologia,* 25, suppl., 1973. - JENSEN W.A., *The Embryo Sac and Fertilization in Angiosperms,* Honolulu, 1972. - MAHESHWARI P., *An Introduction to the Embryology of Angiosperms,* New York, 1950. - ID., éd., *Recent Advances in the Embryology of Angiosperms,* Delhi, 1963. - MESTRE J.C., *la Signification phylogénétique de l'embryogénie, Rev. Gén. Bot.,* t. 74, p. 273-324, 1967. - NITSCH J., éd., *la Naissance de la forme chez l'embryon,* in *Bull. Soc. Bot. Fr. Mém.,* 1973.